Guía de Trabajos Prácticos:

FARMACOLOGÍA

Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia-UNSL

MATERIAL DIDÁCTICO
PARA ESTUDIANTES
2025

ISSN 2545-7683

SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES

Guía Teórico- Práctica

"FARMACOLOGÍA"

Licenciatura en Bioquímica

Autores:

MOYANO, Mario Franco

PAREDES, Jesica Daniela

VILLEGAS GABUTTI, Carlos Mauricio

WENDEL, Graciela Haydée

FACULTAD DE QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS

2025

RESPONSABLES DE LA PUBLICACIÓN

Decano
Dra. Sebastián ANDUJAR

Secretaria Académica
Dra. Mónica OLIVELLA

Comisión de la Serie Didáctica:
Material Didáctico para Estudiantes

Coordinadora
Dra. Yamina DÁVILA

Integrantes
Departamento de Biología

Mg. Karina Ethel MARCHEVSKY
Dra. María Beatriz NÚÑEZ

Departamento de Bioquímica

Dra. Verónica FILIPPA
Dra. Ethelina CARNELUTTI

Departamento de Farmacia

Dra. Cecilia PERALTA
Dra. Ana VICARIO

Departamento de Química

Dr. José A. BOMBASARO
Dra. Cinthya A. MAGALLANES NOGUERA

Edición
Secretaría de Investigación, Vinculación y Extensión

SUMARIO

La publicación periódica Serie Didáctica ha sido creada en el ámbito de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional de San Luis (Ordenanza N° 008/07-CD) con el fin de proporcionar material de estudio a los estudiantes de las Carreras de grado impartidas en la Facultad.

Actualmente, la SERIE DIDÁCTICA: MATERIAL DIDÁCTICO PARA ESTUDIANTES (Resolución N°269/16) ofrece guías de Trabajos Prácticos de Laboratorio y de campo, guías de resolución de problemas, material teórico, propuestas de estudio dirigidos y compresión de textos, entre otros materiales, elaborados por el cuerpo docente de las diferentes Áreas de Integración Curricular de la Facultad. Estas producciones didácticas significan un aporte para cubrir necesidades académicas acordes al enfoque de cada asignatura o que no se encuentran habitualmente en bibliografía específica. Las mismas están disponibles en la página de la UNSL (http://www.fqbf.unsl.edu.ar/mde.html) lo que facilita la accesibilidad por parte de los estudiantes, docentes y comunidad educativa en general, garantizando la calidad de la visualización y la amplia difusión del material publicado en este sitio. De igual modo, la Serie Didáctica realiza una extensión invitando a docentes y alumnos de diferentes niveles educativos a participar, crear, producir y utilizar este espacio fomentando así el vínculo entre esta Institución y la comunidad.

En nuestra opinión, es de vital importancia producir y compartir el conocimiento con los estudiantes y la sociedad. De este modo, se tiende a facilitar los procesos de enseñanza y de aprendizaje y la transmisión de una idea directriz de conducta humana y científica, fortaleciendo los vínculos entre docentes-alumnos-conocimientos y sociedad.

Dado que la presente SERIE DIDÁCTICA resulta de la participación de numerosos actores, ante los posibles errores humanos y cambios en la ciencia, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación del material didáctico garantizan íntegramente que la información sea precisa o completa.

La Farmacología es una disciplina integrativa que estudia propiedades, efectos e interacción que producen los diversos agentes químicos (fármacos naturales, sintéticos, o semisintéticos) a distintos niveles de la organización del ser vivo (animal entero, órgano, sistemas, nivel celular, subcelular y molecular), involucra diferentes tecnologías experimentales que resuelve problemas que son fundamentales a la química biológica (interacción químico-biológica). Se analiza la interacción fármaco-receptor y las leyes físico-químicas-matemáticas que lo rigen. Mecanismos y técnicas de liberación de drogas y obtención de muestras de los diferentes líquidos biológicos. En forma especial, se estudia relación dosis-respuesta, apreciación de efectos adversos y/o tóxicos, importancia de la biodisponibilidad de las drogas, su fármaco cinética y monitorización. Interacción droga-receptor, apreciación de potencia y eficacia, mecanismos de transducción de señales e identificación de puntos de intervención en los procesos biológicos.

Se considera que el alumno de la carrera de Licenciatura en Bioquímica complementará su formación al adquirir entrenamiento en ensayos biológicos básicos y técnicas de farmacología experimental que le permitirán luego desarrollarlos en su especialidad.

Asimismo, en diferentes unidades del programa se incorpora el concepto de interacción entre pruebas bioquímicas y variación farmacológica, tendiendo a la formación científico-integral del profesional bioquímico.

Se considera de relevancia el concepto y aplicación de la Monitorización de fármacos en los laboratorios de Bioquímica Clínica, de modo tal que el estudiante de la carrera de Licenciatura en Bioquímica valore la participación del bioquímico en el control del tratamiento farmacológico, incluyendo la evaluación de la eficacia y de la toxicidad de los fármacos en la práctica clínica para lograr tratamientos más racionales, eficientes y con menos efectos tóxicos para el organismo.

En estos últimos años, se considera la incorporación del bioquímico como agente sanitario en la atención primaria de la salud de la población y la necesidad de que provea una opinión autorizada en las consideraciones de la medicina basada en la evidencia. Es de destacar que, con la Atención Bioquímica se puede potenciar la información y el valor diagnóstico de los exámenes realizados en el laboratorio y ampliar el papel y la demanda laboral del bioquímico para asesorar al médico y para proveer cuidados directos a la población como experto en análisis clínicos, brindando sus conocimientos específicos en favor de la atención primaria de la salud.

ÍNDICE

Trabajo Práctico de Laboratorio Nº 1: Vías de administración y absorción.
Manejo de animales. Normas de Seguridad e Higiene en el laboratorio…….……1
Trabajo Práctico N° 2: Farmacología del Sistema Nervioso Autónomo.
Fármacos con efecto colinérgico. Ensayo en baño para órgano aislado……..9
Trabajo Práctico N° 3: Farmacología del Sistema Nervioso Autónomo.
Fármacos con efecto adrenérgico……16
Trabajo Práctico de Laboratorio Nº 4: Psicofármacos: Antipsicóticos,
Ansiolíticos y Anfetaminas…….…..20
Trabajo Práctico de Laboratorio Nº 5: Estimulantes del Sistema Nervioso
Central y anticonvulsivantes……25
Trabajo Práctico de Laboratorio Nº 6: Anestésicos generales. Anestésicos
Locales. Bloqueantes de placa motora……30
Trabajo Práctico de Laboratorio Nº 7: Analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios
(AINEs). Anticoagulantes, antiagregantes plaquetarios, fibrinolíticos……35
Trabajo Práctico de AULA Nº 8: Monitoreo terapéutico de fármacos.
Parámetros bioquímicos y variación farmacológica ……42
Trabajo Práctico de Laboratorio Nº 9: Fármacos diuréticos. Hormonas……48
Referencias……..56

NORMAS GENERALES

- Jamás debe eutanasiarse un animal, por pequeño que sea, si previamente no existe un plantemiento experimental coherente.
- Antes de iniciar cualquier experiencia con animales de laboratorio debe confeccionarse un protocolo de lo que se va a realizar y enviarlo para su aprobación al CICUAL (Comité Institucional de Cuidado y Uso de animales de Laboratorio) de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia.
- En todos los trabajos de laboratorio es indispensable la limpieza, el rigor científico y el máximo grado de observación de los fenómenos que ocurren, los cuales se anotarán cuidadosamente en un cuaderno, no se confiará nada a la memoria.

NORMAS DESEGURIDAD

Reglas esenciales para la seguridad en el laboratorio de Farmacología

SIEMPRE

- Consultar al jefe de Trabajos Prácticos y ayudantes ante cualquier duda.
- Tener en cuenta la salida de emergencia del laboratorio.
- Identificar los lugares donde se encuentran los matafuegos, no utilizar salvo que se lo solicite.
- Utilizar protección en los ojos con anteojos adecuados cuando el experimento así lo requiera.
- Utilizar guantes aptos para manipular muestras biológicas o para sujetar los animales.
- Vestir ropa adecuada.
- Leer las instrucciones cuidadosamente antes de iniciar cualquier experimento.
- Utilizar propipetas o probetas para medir volúmenes de cáusticos y solventes.
- Sujetar los animales de experimentación con seguridad para evitar su huida.
- Asegurar el bienestar de los animales de experimentación.
- Verificar que el equipo a utilizar esté perfectamente armado.
- Manejar todas las sustancias químicas con el máximo de los cuidados.
- Mantener su área de trabajo limpia y ordenada.
- Lavar las manos antes de abandonar el laboratorio.

NUNCA

- Dejar abierta las jaulas de los animales de experimentación.
- Beber o comer en el laboratorio.
- Fumar en el laboratorio.
- Introducir material enjuagado con solventes en la estufa de secado.
- Pipetear cáusticos o solventes.
- Probar o inhalar sustancias químicas.
- Trabajar solo en el laboratorio.
- Llevar a cabo experimentos no autorizados.

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº 1:
VÍAS DE ADMINISTRACIÓN Y ABSORCIÓN. MANEJO DE ANIMALES. NORMAS DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL LABORATORIO.

OBJETIVOS:

- ofrecer al estudiante una serie de ejercicios prácticos que lo inicien en la experimentación con animales de laboratorio. De este modo, la adquisición de destreza en la manipulación de animales de laboratorio permitirá abordar con comodidad modelos biológicos utilizados en estudios farmacológicos.
- conocer las características más importantes de las principales vías de administración de fármacos
- conocer el material quirúrgico a utilizar

INTRODUCCIÓN:

En este curso de Farmacología, la parte experimental comprende la visualización de los efectos de los principales grupos de fármacos en diversas preparaciones.

Una gran cantidad de especies animales como rata, ratón, cobayo, hámster, perro, gatos, monos, anfibios, palomas, son usados para la experimentación farmacológica. Los animales de experimentación más utilizados en esta asignatura serán la rata y el ratón. En estas jornadas experimentales el estudiante de la Licenciatura en Bioquímica obtendrá experiencia en la administración de diversos compuestos, conocerá la metodología para obtención de muestras de sangre y orina, podrá observar los efectos producidos por diversos fármacos.

El uso de animales de experimentación científica se ha revelado de gran utilidad para el estudio de múltiples problemas médico-biológicos, utilizando el método experimental que ha sido aceptado como el medio más adecuado para llegar a un conocimiento científico de los procesos naturales.

La metodología farmacológica está basada precisamente en la observación de hechos experimentales sobre organismos vivos, para lo cual el experimentador se vale de técnicas fisiológicas y bioquímicas, que aportan datos cualitativos o cuantitativos sobre la acción de los medicamentos, además se aborda el conocimiento sobre los diferentes mecanismos de acción de las sustancias que estudia.

Aunque existe una aceptable equivalencia en todos los fenómenos biológicos en la escala animal, se debe tener siempre una gran precaución a la hora de interpolar los resultados

obtenidos en el animal con las circunstancias que operan en ser humano. Tal es así que no todos los resultados son siempre superponibles a la clínica humana, ya que su aplicación ha sido en algunos casos inadecuada e incluso perjudicial. Esto es debido a que ninguna de las técnicas utilizadas en la experimentación animal puede predecir los efectos indeseables que tienen lugar en el hombre, tales como la diferente respuesta individual (basada en factores genéticos o de cualquier otra índole), reacciones alérgicas, discrasias sanguíneas o, incluso, psicosis tóxicas. Por otra parte, siempre que se trabaja con animales, no existe, al menos cuantitativamente, una respuesta uniforme, sino que se observa una variabilidad estadística, por lo que no cabe sacar conclusiones de una sola experiencia, sino que es preciso considerar un cierto número de ellas.

A pesar de todo esto, la experimentación animal ha sido y seguirá siendo de gran utilidad para el ensayo de nuevos productos con actividad biológica.

En lo posible, se buscan aquellos animales mamíferos lo más parecidos al hombre, aunque no es absolutamente imprescindible. Esquemáticamente se puede decir que cada grupo de fármacos tiene unos animales de elección para ensayar sus efectos. Así, para el estudio de fármacos con acción sobre el sistema nervioso central lo ideal sería experimentar con primates y para fármacos con acción sobre el sistema nervioso vegetativo se recurre al gato o a diversos órganos aislados, que muestran una rica inervación vegetativa.

El sistema circulatorio del gato responde de modo muy parecido al del ser humano, mientras que el sistema genitourinario del perro es ideal para ensayar la acción de diversos medicamentos que actúan sobre ese sistema.

Para el estudio de fármacos con acción sobre el sistema respiratorio se recurre a animales que presentan ritmos respiratorios altos, para así poder estudiar mejor sus variaciones. Los pequeños roedores son en este caso los animales de elección.

ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS:

Principales vías de administración de un fármaco

Un fármaco sólo ejerce su acción cuando alcanza el lugar idóneo sobre el que tiene que actuar. Para que ello ocurra, el fármaco necesita penetrar en el organismo (fenómeno de ABSORCIÓN). Las principales vías de administración de un fármaco la podemos clasificar en:

ENTÉRICAS
- * Gástrica
- * Intestinal
- * Rectal superior

PARENTÉRICAS

- Intradérmica
- Hipodérmica o subcutánea
- Intramuscular
- Intraarterial
- Intravenosa
- Intralinfática
- Intraserosa
- Intramedular
- Parenquimatosa
- Intratecal
- Subdural
- Subaracnoidea
- Mucosas
  - Conjuntival
  - Sublingual
  - Rinofaríngea
  - Urinaria
  - Uretral
  - Vaginal
  - Rectal inferior
- Piel (vía tópica)
- Inhalatoria
  - Tráqueobronquial
  - Alveolar

MATERIALES Y MÉTODOS:

MATERIAL DE CIRUGÍA

Fig. 1.1. Material de cirugía: tijeras.
Fuente: elaboración propia.

Fig.1.2. Material de cirugía: pinzas
Fuente: elaboración propia.

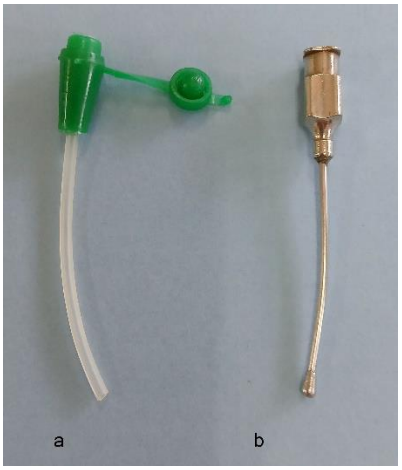


Fig. 1.3. Sondas orogástricas: a- flexible para rata, b- rígida para ratón
Fuente: elaboración propia

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Todos los animales utilizados en esta asignatura provienen del Bioterio de la Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, los cuales se solicitan al CICUAL (Comité Institucional de Cuidado y Uso de animales de Laboratorio, http://www.fqbf.unsl.edu.ar/secretarias/sec_cyt_cicual.html) mediante un Formulario de Protocolo.

El resultado veraz de las experiencias depende de muchos factores, y el cuidado y mantenimiento de los animales es de suma importancia.

Para que las pruebas experimentales resulten lo más confiable posible, el estado del animal experimental debe ser de condiciones óptimas de manera que en forma continua se deben acondicionar las construcciones de los bioterios para que sus sistemas de ventilación, iluminación e higiene sean lo más adecuado posible.

http://www.fqbf.unsl.edu.ar/documentos/mde/Cuidado-Uso-Animales.pdf

Los animales de experimentación que se utilizarán en este trabajo práctico serán:

Rata: cepa Wistar

Ratón: cepa Balb/c

Fig. 1.4. Ratón Balb/c
Fuente: elaboración propia.

Fig. 1.5. Rata Wistar
Fuente: elaboración propia.

MATERIALES

Jeringas de 1 ml, tipo tuberculina

Agujas: 15/5; 25/5

Solución de cloruro de sodio 8% (solución fisiológica)

Sondas gástricas para rata y ratón

Soporte de contención para inyección endovenosa

MÉTODOS:

VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

Vía oral:

Es la vía más adecuada para administrar un medicamento, aunque no siempre es la más útil. Cuando se emplee esta vía hay que dejar a los animales en ayunas al menos 24 horas antes. Para los pequeños roedores existen cánulas apropiadas que consisten generalmente en agujas de calibre grueso y la punta en forma de oliva, para evitar traumatismos. Para animales más grandes se emplean sondas de plástico flexibles.

En cualquier caso, se debe introducir el dispositivo hasta el nivel gástrico para administrar la sustancia. Hay que asegurarse de que se está en la vía adecuada antes de inyectar la solución. La penetración de líquido en las vías respiratorias puede llevar a la muerte brusca del animal, según la cantidad, o a producir alteraciones que falsearían los resultados.

Fig. 1.6. Administración oral con sonda orogástrica. Fuente: elaboración propia.

Vía subcutánea:

Siempre que se inyecte una sustancia por esta vía conviene asegurarse de que realmente la inyección es subcutánea; para lo cual, una vez atravesada la piel, con la aguja, se seguirá el trayecto de la misma con los dedos. Conviene que el líquido inyectado quede a bastante distancia del lugar de la punción para evitar la salida del mismo. Es conveniente utilizar agujas de suficiente longitud. Las zonas de elección para la

Fig. 1.7. Administración subcutánea. Fuente: elaboración propia.

punción subcutánea en animales pequeños suelen ser a nivel del dorso (en la base de la cola o en la parte superior del cuello, algo por detrás de las orejas).

Vía intramuscular:

En los animales no es una vía útil por lo reducido de sus masas musculares. En las aves la inyección se practica a nivel del músculo pectoral y en los mamíferos en los músculos de las patas traseras.

Vía intraperitoneal:

Las punciones deben practicarse en la mitad inferior del abdomen, por fuera de la línea media. Con una mano se levanta la piel de la región, para separar la pared del contenido abdominal y evitar así su punción. Primero se introduce la aguja subcutáneamente hasta la mitad de su longitud y luego se acaba de introducir verticalmente a través de la pared abdominal. Este método asegura la penetración adecuada en la cavidad abdominal y evita que el líquido pueda refluir. Conviene utilizar agujas de bisel corto y de calibre regular.

Fig. 1.8. Administración intraperitoneal
Fuente: elaboración propia.

Vía intravenosa:

Es muy útil en la experimentación animal, sirve para la administración de una sustancia a dosis exactas, o para extraer muestras de sangre para su análisis. En el conejo, la administración intravenosa se realiza en la vena marginal de la oreja. Se toma la oreja con la mano de forma que quede la zona que se va a puncionar entre los dedos pulgar e índice, y con la otra mano se introduce la aguja. En el ratón la inyección se practica en las venas de la cola. Se precisan agujas muy finas, no muy largas. Antes de la punción, se pueden ingurgitar las venas de la cola mediante calor. Con una mano se toma y atiranta la cola, de modo que ésta haga relieve sobre el dedo índice, lo que sirve de apoyo para luego introducir la aguja.

Fig. 1.9. Administración endovenosa
Fuente: elaboración propia.

No debe inyectarse hasta estar seguros de que todo el trayecto de la aguja está dentro de la vena, para evitar desgarros. En el perro, la vena que se utiliza es la safena.

Vía rectal:

Es un tanto irregular para la absorción de sustancias. Antes de la administración se deja a los animales 24 h en ayunas, para evitar que las heces interfieran en los procesos de absorción. Es conveniente colocar a los animales con las patas traseras más elevadas que la cabeza, para evitar el reflujo del producto administrado.

ACTIVIDADES:

1- Realizar las administraciones especificadas en la siguiente tabla:

Animal	Vía de administración	Lugar de administración	Calibre de aguja utilizada
Rata Ratón	Subcutánea	Región dorsal	15/5 (21G)
Rata Ratón	Endovenosa	Venas de la cola	15/5 (21G)
Rata Ratón	Intraperitoneal	Región abdominal	25/5 (rata) (25G) 15/5 (ratón) (21G)
Rata Ratón	Oral	Intragástrica	Sonda gástrica

2- Observar las principales características diferenciales entre macho y hembra de los siguientes animales:
   Rata
   Ratón

Obtención de muestras de sangre por punción cardíaca

Anestesiar el animal y sujetarlo en tabla de contención con la parte ventral hacia arriba. Insertar la aguja a nivel de la punta del esternón, donde se palpen los latidos del corazón e insertar la aguja con un ángulo aproximado de 45º y empujar suavemente hasta alcanzar el mismo. Aspirar con el émbolo de la jeringa hasta obtener el volumen de sangre deseado.

Obtención de muestras de sangre del plexo retro-orbital venoso de ratón

Sujetar el ratón con la mano izquierda, apoyarlo con firmeza sobre la mesa, y con los extremos de los dedos índice, medio y pulgar, hacer un pliegue con la piel por detrás de las orejas, retrayendo la piel con cuidado de no sofocar el animal de manera de cerrar el retorno venoso de la cabeza. Inclinar hacia un costado la cabeza del ratón, debiendo quedar un ojo hacia arriba, si la manipulación ha sido adecuada deberá observarse que los globos oculares están congestionados por la presión realizada sobre el pliegue formado. A continuación, se toma la pipeta con la mano derecha aplicándose su punta sobre el foramen óptico en la parte inferior y posterior de la órbita ocular. Rotar la pipeta sobre su eje cortando la pared del plexo y retirar levemente la pipeta (aproximadamente 1 mm), de esta manera la sangre deberá ascender por la misma. La pipeta no debe moverse hasta que deje de fluir sangre, si durante la operación se interrumpe el flujo de sangre repita el procedimiento hasta que extraiga la cantidad de sangre necesaria. Cuando existan problemas de coagulación en la pipeta, utilice otra. En caso de trabajar con rata el procedimiento es igual que el descripto para ratón, debiendo anestesiarse previamente el animal y es conveniente utilizar pipetas heparinizadas.

En: http://www.fqbf.unsl.edu.ar/documentos/mde/Cuidado-Uso-Animales.pdf
BIOTERIO: Normas de higiene y seguridad, Limpieza y desinfección
ÉTICA EN EL USO DE ANIMALES: Principio de las tres Rs
RATAS Y RATONES: Características generales, Manejo y cuidado básico, Sexado de ratas y ratones

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº 2:

FARMACOLOGÍA DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO. FÁRMACOS CON EFECTO COLINÉRGICO.

ENSAYOS EN BAÑO PARA ÓRGANO AISLADO:

OBJETIVOS:

- Comprender el significado biológico de las distintas acciones de fármacos sobre la sinapsis colinérgica.
- Conocer las condiciones y requisitos, ventajas e inconvenientes para realizar estudios en órgano aislado.
- Concientizar acerca de la necesidad de reemplazar el uso de animales experimentales por simulaciones como método alternativo

INTRODUCCIÓN:

Los ensayos realizados en órgano aislado constituyen un modelo sencillo para demostrar la interacción fármaco-receptor eliminando factores farmacocinéticos. Proporcionando datos acerca del mecanismo de acción de un fármaco, de los receptores que median dicha acción, la potencia relativa, concentraciones activas, interacciones con otros agonistas del mismo receptor, etc.

Ventajas de la utilización del órgano aislado:

- Cuantificación precisa de la respuesta (se elimina la interacción con otros órganos y sistemas).
- No hay fenómenos reflejos
- No hay influencia de la farmacocinética (no obstante, el metabolismo de la droga puede estar presente).

Inconvenientes de la utilización de un órgano aislado:

Aunque se corresponde con la acción de un fármaco, la información no siempre se puede extrapolar al organismo entero.

Requisitos de una preparación de órgano aislado:

El tejido u órgano requiere ser mantenido en condiciones fisiológicas para asegurar que las respuestas inducidas por el fármaco sean auténticas. Esto se consigue controlando diferentes parámetros.

El tejido debe mantenerse en soluciones salinas fisiológicas, que son una mezcla de sales inorgánicas en agua destilada. La composición varía según los requerimientos del órgano

con el que se vaya a trabajar. Sin embargo, siempre han de tenerse en cuenta los siguientes parámetros: composición electrolítica; osmolaridad y aporte de energía (glucosa).

Estas soluciones requieren aireación constante, bien sea con 95% 0_2, 5% CO_2 o aire cuando se trabaja con el recto abdominal de sapo. Siempre que se trabaje con tejido de mamíferos la temperatura debe ser de 37°C. Oscilaciones de 1°C pueden afectar de manera importante a la respuesta. En algunos casos, determinados tejidos requieren temperaturas más bajas, con el fin de reducir los requerimientos de O_2 o disminuir contracciones espontáneas.

El montaje del órgano se realiza en un baño de órganos el cual está constituido por una cámara que contiene un volumen apropiado de solución buffer para la preparación. Este baño tiene una “doble pared entre las cuales circula agua caliente procedente de un baño con temperatura controlada, con el fin de mantener la temperatura adecuada. Un termostato regula la temperatura del baño. El buffer llega desde un reservorio hasta la cámara a través de un serpentín que mantiene la temperatura. Para cambiar la solución en contacto con órgano, la cámara se vacía por una salida inferior.

El tejido se sujeta por uno de sus extremos a un enganche que se encuentra fijo a la pared de la cámara. El otro extremo está unido a un transductor de registro. Este, a su vez, está conectado con un polígrafo en el cual se registran los cambios de tensión o de longitud. Para poder cuantificar correctamente la respuesta hay que realizar previamente el calibrado del polígrafo.

Cuando se trabaja con tejidos biológicos, la metodología experimental debe ser regular y constante. Aun así, la variación biológica en la respuesta tisular oscila entre un más o menos, diez por ciento de la media.

Existe una gran variedad de órganos y tejidos que se pueden trabajar “in vitro”, midiendo, por ejemplo, la capacidad contráctil de éstos (útero, intestino delgado, músculo esquelético, conducto deferente, corazón y vasos sanguíneos, estómago, músculo liso de las vías aéreas).

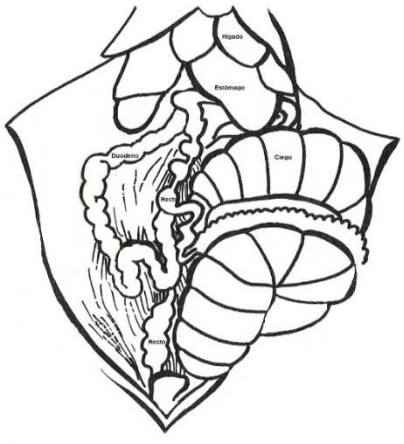


Fig. 2.1. Duodeno de conejo.
Fuente: Barastegui Almagro, 1977 (modificado).

DUODENO DE CONEJO

La acción de sustancias con actividad sobre el sistema nervioso vegetativo puede ponerse de manifiesto en preparados de músculo liso.

Así, tanto las sustancias colinérgicas como las adrenérgicas actúan sobre el músculo liso intestinal. En estos preparados es posible también ensayar el estudio de las sustancias antagonistas.

ILEON DE COBAYO

El músculo intestinal está inervado por fibras nerviosas simpáticas y parasimpáticas. El reflejo peristáltico es miogénico y local, es decir independiente de toda inervación. Esta actividad miogénica espontánea varía a lo largo del intestino, por lo cual las respuestas serán diferentes en distintas porciones del órgano.

La estimulación simpática inhibe los movimientos peristálticos, mientras que la estimulación parasimpática los aumenta. El incremento del peristaltismo está mediado por receptores muscarínicos. Los agonistas muscarinicos van a producir una contracción que será inhibida por antagonistas selectivos.

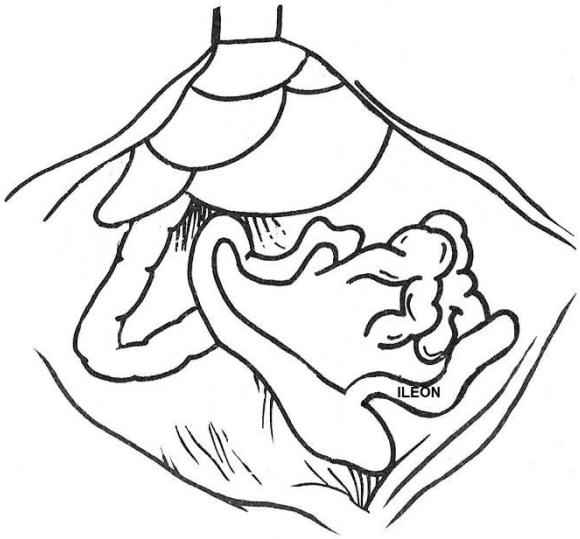


Fig. 2.2. Íleon de cobayo.
Fuente: Barastegui Almagro, 1977 (modificado).

CONDUCTO DEFERENTE DE RATA

El conducto deferente es un órgano cuya musculatura lisa es muy recaen receptores simpáticos, principalmente de tipo α. La estimulación de estos receptores se pone de manifiesto por la contracción del órgano, lo cual se puede registrar y medir.

Se hace una incisión a nivel de las bolsas escrotales y se pone a descubierto el testículo. Sobre el testículo se encuentra una formación alargada que es el epidídimo. De la porción más delgada del epidídimo continúa un cordón blanquecino que va a desembocar a nivel de la próstata. Este cordón es el conducto deferente.

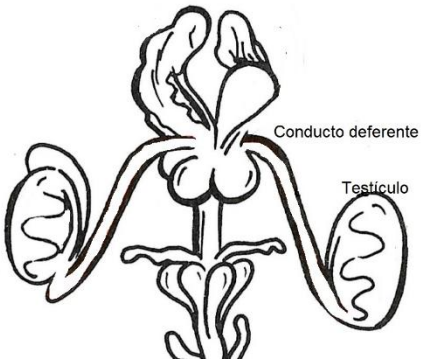


Fig. 2.3. Conducto deferente.
Fuente: Barastegui Almagro, 1977 (modificado).

ANILLOS TRAQUEALES DE COBAYA

La tráquea y los bronquios son órganos cuya musculatura es muy rica en receptores adrenérgicos, principalmente del tipo β. La estimulación de estos receptores se pone de manifiesto por la relajación del órgano, lo cual se puede registrar y medir.

ACTIVIDADES

Se utilizará el programa Programa *Organ Bath Simulation (OBSim)* que consiste en una simulación de un baño de órgano aislado. Se analizará la acción de la acetilcolina y de distintos fármacos colinérgicos sobre la musculatura lisa de íleon de cobayo.

PROCEDIMIENTO

1. Vaya al menú de inicio y abra el **programa OBSim > OBSim**.
2. Una vez abierto el programa de simulación, examine los siguientes apartados:
    a. Tipo de tejido (Tissue type).
    b. Presione **ON** > **New experiment**.
    c. **Agonistas**: aparecen diferentes fármacos a distintas concentraciones.
        Add to Organ Bath: aquí se adiciona el agonista en el volumen elegido.
    d. **Antagonistas**: aparecen diferentes fármacos a distintas concentraciones.
        Add **Organ Bath** o **Reservoir**: aquí se adiciona el antagonistas en el volumen elegido.
    e. **Flush Reservoir To Bath**: opción para eliminar (“lavar”) fármaco del baño.
    f. **Record**: comenzar el experimento
    g. **Stop**: detener el experimento.
    h. En el eje de las abscisas (X) se representa el tiempo en segundos.
    i. En el eje de las ordenadas (Y) se representa la fuerza de contracción en gramos.

Experimento 1

-1° problema

Seleccione: Tipo de tejido: íleon de cobayo Estimulación: musculo Presione **Experimental Setup** para ver la representación del montaje experimental y luego vuelva a la pestaña **Chart**. Agonista: Acetilcolina Stock solution: 1 x 10^{-7} M Volumen: 0.1 ml	**A.** Presione **Record**. Compruebe que la línea base está estabilizada. Dejar actuar durante 10 segundos. **B.** Presione **Add to Organ Bath**. Dejar actuar la acetilcolina durante 10 seg aproximadamente (hasta que estabilice la respuesta) **C.** Presione **Flush Reservoir To Bath**. Espere hasta que se recupere la línea base. **D.** Presione **Stop** al llegar a la próxima división vertical para preparar la siguiente dosificación. Luego continuará incrementando la dosis de Acetilcolina, sin variar el volumen, hasta que se alcance la respuesta (Emax= 100% efecto). En cada caso, proceda como se detalló **A. B. C. D**.
Grafique lo que observa, indicando la concentración de Ach que utiliza:	

-2° problema

(**Continuar con el mismo experimento**)

*A- Agonista: Acetilcolina
Stock solution: 1 x 10^{-7} M; Volumen: 0.1 ml (Proceder como en los pasos **A. B**. **C.** y **D**.).
*Antagonista: Atropina
Stock solution: 1 x 10-3 M; Volumen: 0.1 ml; SIN LAVAR (Proceder como el paso **A,** luego presione **Add** **Organ Bath** , seguidamente del paso **D,** obviar paso **C**).
*Agonista: Acetilcolina
Stock solution: 1 x 10^{-7} M; Volumen: 0.1 m; SIN LAVAR (Proceder como en los pasos **A. B**. y **D**.)
Observe el efecto y razone el resultado.

*B- Agonista: Acetilcolina

Stock solution: concentraciones crecientes comenzando por 1 x 10^{-6} M; Volumen: 0.1 ml; SIN LAVAR (Proceder como en los pasos **A. B**. y **D**.). Luego continuará con dosis 1 x 10^{-5}, 1 x 10^{-4}, 1x 10^{-3}, 1 x 10^{-2} y 1 x 10^{-1}.
Observe el efecto y razone el resultado.

Grafique lo que observa e interprete el resultado:

Experimento 2

-1° Problema

Seleccione: Tipo de tejido: íleon de cobayo Estimulación: músculo	*Agonista: Acetilcolina Stock solution: 1 x 10^{-7} M; Volumen: 0.1 ml; (Proceder como en los pasos **A. B**. **C.** y **D**.) * **Unknowns**: Drug 1 Stock solution: 1 x 10^{-3} M; Volumen: 0,05 ml; SIN LAVAR (Proceder como el paso **A,** luego presione **Add** **Organ Bath** , seguidamente del paso **D,** obviar paso **C**). *Agonista: Acetilcolina Stock solution: 1 x 10^{-7} M; Volumen: 0.1 ml; SIN LAVAR (Proceder como en los pasos **A. B**. y **D**.) * Agonista: Acetilcolina Stock solution: 1 x 10^{-3} M; Volumen: 0.1 ml; (Proceder como en los pasos **A. B**. **C.** y **D**.)

Grafique lo que observa e interprete el resultado:

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO N° 3:
FARMACOLOGÍA DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO. FÁRMACOS CON EFECTO ADRENÉRGICO.

OBJETIVOS:

- Comprender el significado biológico de las distintas acciones de fármacos sobre la sinapsis adrenérgica.
- Determinar las acciones cardiovasculares de distintas dosis de noradrenalina y adrenalina.
- Conocer las acciones cardiovasculares de diferentes fármacos simpaticomiméticos: agonistas α y agonistas β
- Determinar los cambios que producirá la administración previa de distintos antagonistas sobre los efectos cardiovasculares de los fármacos estudiados.
- Concientizar acerca de la necesidad de reemplazar el uso de animales experimentales por simulaciones como método alternativo
- Conocer la metodología utilizada para la investigación de efectos cardiovasculares de fármacos adrenérgicos en animales de experimentación.

INTRODUCCIÓN:

La comprensión de la estructura y funcionamiento del sistema nervioso autónomo es importante por diversas razones:

- La actividad de los principales sistemas orgánicos está controlada o regulada por una o ambas ramas del sistema nervioso autónomo (SNA). La actividad de estos sistemas puede ser alterada farmacológicamente, de modo que las condiciones patológicas que afectan a los mismos sistemas pueden ser tratadas con fármacos de acción selectiva.
- El SNA y los órganos que inerva pueden ser sitios de efectos colaterales, a menudo indeseables, de fármacos cuya acción principal se ejerce e otro lugar. Por lo tanto, para entender las acciones de muchos fármacos es necesario conocer los principios de la neurotransmisión en el SNA.
- Las teorías acerca de estudios en el SNA y los órganos que inerva. Estos principios son aplicables a la transmisión neuronal en el sistema nervioso central.

La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre sobre las paredes vasculares, se mide en milímetros de mercurio (mm Hg) con dos valores, el primero corresponde a la presión

sistólica (PAS) cuando el corazón se contrae, y el segundo corresponde a la presión arterial diastólica (PAD).

El uso de animales como modelos experimentales para el estudio de la hipertensión, es una herramienta valiosa para proporcionar información sobre la etiología, fisiopatología y las complicaciones de esta enfermedad. Es considerada una herramienta eficaz para estudiar los mecanismos de acción de diversos fármacos y compuestos utilizados en los tratamientos a los que son sometidos los animales de experimentación. En estos modelos pueden ser supervisados los efectos dietéticos y ambientales, y en caso de requerir muestras de tejido o fluidos, éstas pueden ser obtenidas de manera fácil en el laboratorio. Actualmente, la rata es uno de los animales predilectos como modelos para el estudio de la hipertensión arterial, utilizando registradores de presión arterial multifunción, no invasivo, para uso en estudios científicos en animales anestesiados o despiertos.

En este trabajo práctico de utilizará un simulador cardiovascular, mediante la utilización del programa interactivo el estudiante podrá conocer la metodología utilizada para la investigación de efectos cardiovasculares de fármacos adrenérgicos en animales de experimentación, sin la necesidad de eutanasiarlos.

ACTIVIDADES

Se utilizará el programa interactivo CARDIOLAB (Simulador de Farmacología cardiovascular *in vivo*).

Este es un programa que simula los resultados de un registrador de gráficos de experimentos farmacológicos cardiovasculares in vivo en animales anestesiados (normal o reserpinizado) y descerebrados. En la pantalla aparecerán el ritmo cardíaco simulado y los trazados de presión arterial.

PROCEDIMIENTO

Elija:

1-for colour display

1- doses in pg/kg

1- pressure in mmHg

1-British drug names

3-no pretreatment screen display

Protocolos experimentales:

1- Administre las siguientes dosis de:

Adrenalina 10 ug/kg

Prazosin 200 ug/kg

Adrenalina 10 ug/kg

Termine el experimento (No 29, Y, 3)

2- Administre las siguientes dosis de:

Noradrenalina 2 ug/kg. Anote el valor de presión

Cocaina 2000 ug/kg

Noradrenalina 2 pg/kg. Anote el valor de presión

Termine el experimento (No 29, Y, 3)

3- Administre las siguientes dosis de:

Fenilefrina 10 ug/kg

Prazosin 200 ug/kg

Fenilefrina 10 ug/kg

Termine el experimento (N° 29, Y, 3)

4- Administre las siguientes dosis de:

Isoprenalina 2 pg/kg

Propranolol 700 pg/kg

Isoprenalina 2 ug/kg

Termine el experimento (No 29, Y, 3)

5- Administre cuatro dosis consecutivas de tiramina de 5000 ug/kg. Anote los valores de presión arterial luego de cada administración

Administre una quinta dosis de 10000 pg/kg

Avance en el tiempo (No 28) 120 min.

Y administrar nuevamente 5000 pg/kg de tiramina

Termine el experimento (No 29, Y, 3)

Simulación de respuestas cardiovasculares de drogas que actúan sobre el sistema nervioso parasimpático.

Protocolos experimentales:

1-Administre las siguientes dosis de:
Acetilcolina 20 pg/kg
Atropina 100 pg/kg
Acetilcolina 20 ug/kg
Termine el experimento (No 29, Y, 3)

2- Administre las siguientes dosis de:
Acetilcolina 20 ng/kg
Atropina 100 pg/kg
Acetilcolina 5000 ng/kg
Termine el experimento (N 29, Y, 3)

3- Administre la siguiente dosis de:
Acetilcolina 200 ug/kg
Termine el experimento (N° 29, Y, 3)

4- Administre la siguiente dosis de:
Acetilcolina 5000 ug/kg
Termine el experimento (No 29, N)

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº 4:
PSICOFÁRMACOS: ANTIPSICÓTICOS, ANSIOLÍTICOS Y ANFETAMINAS

OBJETIVOS:

- Conocer las características más importantes de fármacos que actúan en el sistema nervioso central: antipsicóticos, ansiolíticos y anfetaminas
- Conocer los métodos de estudio de los fármacos mencionados
- Observar el efecto de estos fármacos en los animales de experimentación
- Observar el efecto de clorpromacina a grandes dosis

INTRODUCCIÓN:

Antipsicóticos:

Los fármacos antipsicóticos se emplean en clínica para el tratamiento de la esquizofrenia. La esquizofrenia es una enfermedad se presenta como un trastorno heterogéneo en el que quienes lo padecen muestran diferentes combinaciones de síntomas, originados por distintas anomalías neuronales. Es necesario desarrollar modelos animales de esquizofrenia que simulen sus componentes positivos, negativos y de déficit cognitivo. En líneas generales, los modelos clásicos reflejan comportamientos derivados de la intensificación de la transmisión dopaminérgica en el cerebro. En consecuencia, es probable que muestren resultados positivos con fármacos que presentan actividad antagonista de los receptores de dopamina. Los modelos basados en la inhibición de la función de receptores NMDA por la fenciclidina (PCP) y otros fármacos afines han ganado aceptación en los últimos años.

También se están explorando varios modelos genéticos. No obstante, la base genética de la esquizofrenia es multifactorial y los factores ambientales son también importantes.

Los antipsicóticos, del tipo de las fenotiacinas, tienen una acción depresora a nivel de estructuras subcorticales que se relacionan con el componente instintivo-afectivo. Disminuyen la actividad motora espontánea en los animales de experimentación, llegando a producir estados catalépticos. La clorpromacina, a grandes dosis, es capaz de producir estos efectos.

Ansiolíticos:

Los fármacos ansiolíticos se utilizan para tratar la ansiedad. Además del componente subjetivo (emocional) de la ansiedad humana, existen efectos conductuales y fisiológicos medibles, y que también se observan en animales de experimentación.

En términos biológicos, la ansiedad induce una particular forma de inhibición conductual, generada en respuesta a nuevos estímulos ambientales de amenaza o dolor. En animales, esta inhibición puede adoptar la forma de inmovilidad o de supresión de una respuesta conductual, como la de presionar una palanca para obtener alimento. Una rata colocada en un entorno que no le es familiar suele responder manteniéndose inmóvil, aunque alerta, durante un tiempo (inhibición conductual), lo que corresponde a una «ansiedad» inducida por el entorno extraño. Esta inmovilidad disminuye cuando se le administran fármacos ansiolíticos. El «laberinto elevado en cruz» es un modelo de prueba muy utilizado. Dos brazos horizontales de la cruz están cerrados, mientras que los otros dos quedan abiertos. Normalmente, las ratas pasan la mayor parte del tiempo en los brazos cerrados y evitan los abiertos (por temor a caer o a ser atacadas). Cuando se les administran ansiolíticos, aumenta el tiempo que pasan en los brazos abiertos y el número de veces que entran en uno de ellos, pero sin un incremento de la actividad motora.

También es posible utilizar pruebas de conflicto. Por ejemplo, una rata entrenada para presionar una palanca repetidas veces con la finalidad de obtener un grano de pienso normalmente alcanza una tasa de respuesta elevada y constante. Es entonces cuando se introduce un elemento de conflicto: a intervalos, indicados por una señal acústica, la presión sobre la palanca va acompañada de un «castigo» ocasional, en forma de ligera descarga eléctrica, además de la recompensa del grano de pienso. Lo normal es que la rata deje de presionar la palanca cuando suena la señal (inhibición conductual), con objeto de evitar la descarga. Cuando se le administra un ansiolítico, disminuye este efecto inhibidor y la rata continúa presionando la palanca a pesar del «castigo».

Para desarrollar nuevos ansiolíticos es importante contar con pruebas en animales que permitan evaluar la eficacia en humanos, por lo que se está dedicando una notable inventiva al desarrollo y validación de dichas pruebas.

Anfetaminas:

La administración prolongada de anfetaminas a animales de experimentación provoca la degeneración de las terminaciones nerviosas que contienen monoaminas y, finalmente, la muerte celular. Este efecto se observa cuando se administran dosis tóxicas, y se debe probablemente a la acumulación de metabolitos reactivos en las terminaciones nerviosas.

MATERIALES Y MÉTODOS:

1- TEST DE LA "CHIMENEA PARA PSICODEPRESORES"

Animal:

Ratones en ayuno de 24 horas

Fármaco-dosis:

Clorpromacina (4 mg/kg)

Material:

Tubo de vidrio de 30 cm de longitud con una marca de 20 cm de un extremo.

Jeringas (Tipo tuberculina).

Cronómetro

Aguja 15/5

Método: Se coloca el tubo en forma horizontal (seleccionar el tubo según el tamaño del animal) y se introduce un ratón por el extremo próximo a la marca con la cabeza hacia adelante.

Cuando el animal llega al extremo opuesto se coloca éste en posición vertical. El ratón comienza a retroceder por el tubo manteniendo la cabeza hacia abajo. Se toma el tiempo que tarda en llegar a la marca. El test es positivo cuando el animal llega a la marca indicada en menos de 30 segundos. Se administra clorpromacina intraperitoneal. Se deja cada ratón en su caja individual y a los 30 minutos se repite la experiencia.

Observar efectos, comparar tiempos y anotar resultados.

2- EFECTO DE LA ANFETAMINA Y CLORPROMACINA SOBRE MOTILIDAD DEL RATÓN

Animal:

3 ratones

Fármaco-dosis:

Anfetamina (15 mg/kg)

Clorpromacina (4 mg/kg)

Material:

Actógrafo

Jeringas (tipo tuberculina)

Aguja 15/5

Fig. 4.1. Actógrafo. Fuente: elaboración propia.

Método:

Pesar los ratones. Anotar su peso. Colocar en el actógrafo.

Registrar la motilidad espontánea durante 10 minutos

Inyectar anfetamina intraperitoneal, a los 15 min. Registrar la motilidad durante 10 min.

Inyectar Clorpromacina intraperitonealmente, a los 15 min. Registrar la motilidad durante 10 min.

Observar comportamientos y anotar los resultados obtenidos.

3- EFECTO DE CLORPROMACINA EN MOTILIDAD (ROTA-ROD)

Animal:

3 ratones

Fármaco-dosis:

Clorpromacina (4 mg/kg)

Material:

Rota-rod

Jeringas (tipo tuberculina)

Aguja 15/5

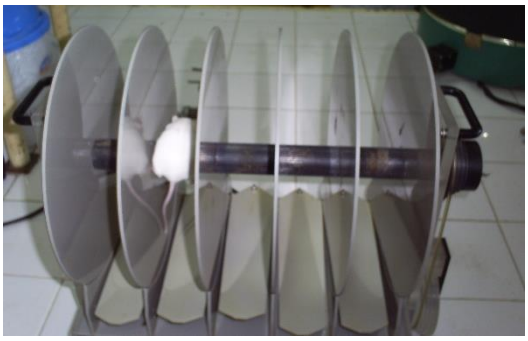


Fig. 4.2. Rota-rod. Fuente: elaboración propia

Método:

Colocar los ratones en el Rota-rod (cilindro rotatorio), uno en cada espacio, puesto en marcha. Los ratones deben permanecer en el rota-rod 5 minutos sin caerse. Si cae, debe descartarse y se toma otro.

Una vez seleccionados, se pesan, se administra clorpromacina intraperitoneal.

A los 20 minutos, se colocan nuevamente en el rota-rod en marcha.

Anotar las veces que se cae cada ratón en 5 minutos.

Comparar resultados y anotar conclusiones.

4- CATALEPSIA EN LA RATA

Animal:

Rata de 250 g

Material:

Jeringa de 2 ml

Sonda orogástrica de plástico

Fármaco-dosis:

Clorpromacina 20 mg/kg

Método:

Se administra por vía oral la clorpromacina. Se observan los resultados, hasta el momento en que tanto el cuerpo como las extremidades de la rata pueden colocarse en las más variadas posturas, permaneciendo inmóviles durante largo tiempo.

5- INHIBICIÓN DEL CONDICIONAMIENTO (Mostración del equipamiento)

Animal:

Rata

Fármaco-dosis:

Clorpromacina (4 mg/kg)

Material:

Caja de aprendizaje dividida en dos mitades por un tabique que en su parte media inferior posee una abertura que permite el pasaje del animal hacia uno u otro compartimento. Cada mitad de la caja puede ser iluminada independientemente con una lámpara de 5 watts. El piso de la caja es una grilla metálica conectada a una red eléctrica con un interruptor pulsátil.

Método:

Durante 5 días consecutivos se realizan sesiones de habituación que consisten en pesar el animal y colocarlo en la caja de pruebas (con ambas lámparas encendidas) donde recibe cinco shocks eléctricos (1,4 Ma, 50 cps) de 5 segundos de duración a intervalos variables entre 1 y 3 minutos.

Los shocks se aplican a través del piso (grilla metálica). Los siguientes días se realizan sesiones de aprendizaje que consisten en colocar la rata en la caja de pruebas a oscuras y encender la luz del compartimento donde ella se encuentra. Si a los 5 segundos no pasa a la parte oscura se le aplica electroshock a través de la grilla hasta que pase. Se hacen 10 pruebas diarias a intervalos variables entre 1 y 3 minutos.

Luego se toman 2 ratas condicionadas y a una se le administra Clorpromacina vía intraperitoneal.

Se comentarán los comportamientos.

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº 5:

ESTIMULANTES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y ANTICONVULSIVANTES

OBJETIVOS:

- Conocer las características fármacos estimulantes que actúan en el sistema nervioso central y anticonvulsivantes
- Conocer los métodos de estudio de los fármacos mencionados
- Observar el efecto de estos fármacos en los animales de experimentación

INTRODUCCIÓN:

En el animal de experimentación es posible provocar convulsiones que reproduzcan una sintomatología semejante a la de muchas enfermedades convulsivantes que se observan en la clínica. El prototipo de enfermedad convulsivante es la epilepsia. Como en los pacientes epilépticos es difícil realizar estudios detallados, se han desarrollado muchos modelos animales distintos. Con la introducción de modelos experimentales de epilepsia en los animales de laboratorio se ha conseguido un gran avance en el tratamiento de esta enfermedad.

Algunos de los métodos para inducir ataques epilépticos en los animales son:

-convulsiones inducidas por estimulación eléctrica

-Convulsiones inducidas por la administración parenteral de drogas

-Implantación de material irritante bajo el córtex cerebral.

Se han descrito cepas de ratones transgénicos que sufren crisis espontáneas. Entre ellos hay ratones con mutaciones que eliminan varios canales iónicos, receptores y otras proteínas sinápticas.

La aplicación local de cristales de penicilina produce crisis focales, probablemente por interferencia en la transmisión sináptica inhibidora.

Los fármacos convulsionantes, como el pentilentetrazol (PTZ), se emplean a menudo en la evaluación de fármacos antiepilépticos, donde también se aplican crisis provocadas por la estimulación eléctrica global del encéfalo. Empíricamente, se ha observado que los fármacos que inhiben las crisis inducidas por PTZ y elevan el umbral para la producción de crisis provocadas por estimulación eléctrica suelen ser eficaces frente a las ausencias, mientras que los que reducen la duración y la propagación de las crisis inducidas eléctricamente son útiles en los tipos convulsivos de epilepsia, como las crisis tónico-clónicas. En el modelo de cainato, la inyección de una sola dosis de ácido caínico, agonista del receptor de glutamato, en el núcleo

de la amígdala de rata puede inducir crisis espontáneas 2-4 semanas después que se mantienen de forma indefinida.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. EFECTO DE CONVULSIVANTES Y ANTICONVULSIVANTES EN RATÓN

Animal:

Ratones

Fármaco-dosis:

Picrotoxina (500 µg/100 g de animal)

Estricnina (0.4 mg/100 g de animal)

Pentilentetrazol (15 µg/100 g de animal)

Difenilhidantoína (20 mg/ 100 g de animal)

Fenobarbital (25 mg/ 100 g de animal)

Material:

Jeringas (Tipo tuberculina).

Agujas 15/5

Método:

Pesar los ratones. Anotar su peso.

Formar 4 lotes y administrar los fármacos por vía intraperitoneal según el siguiente esquema:

Lote	Ratón	Fármaco	Efecto
A	1	Picrotoxina	
	2	Estricnina	
	3	Pentilentetrazol	
B	4	Difenilhidantoína	
	5	Fenobarbital	
	6	A los 20 minutos, picrotoxina	
	7	A los 20 minutos, picrotoxina	

Explicación: EFECTO DE ESTRICNINA EN SAPO:

Animal:

Sapo

Fármaco-dosis:

Estricnina (1 mg/ 100 g de animal)

Material:

Jeringa de 1 ml.

Aguja 25/8

Desmedulador

Método:

Pesar un sapo. Anotar su peso.

Observar respuestas normales del animal frente a estímulos externos: golpear la mesa, apretarle una extremidad, etc.

Administrar en saco linfático estricnina.

Observar convulsiones.

Descerebrar. Observar

Desmedular. Observar.

Comentarios:

Los animales inyectados con estricnina, entran en fase de convulsión con diferentes períodos,

1. Período de hiperreflexia: Hay aumento de la excitabilidad refleja medular. Si se produce cualquier estímulo-cutáneo, luminoso o auditivo, el animal responde con convulsiones tónicas exageradas.
2. Período convulsivo: Hay una convulsión generalizada de todos los músculos, con incoordinación, aparición de una contracción sostenida (tetania) y rigidez. Las convulsiones se manifiestan con flexión de los miembros superiores y extensión de los inferiores. Son convulsiones tónicas.
3. Período de parálisis: Predominan fenómenos depresivos. Las convulsiones desaparecen por agotamiento de los centros nerviosos.

Fig. 5.1. Sapo administrado con estricnina.
Fuente: Barastegui Almagro, 1977 (modificado).

ANALGÉSICOS CENTRALES

OBJETIVOS:

- Conocer las características fármacos analgésicos centrales
- Conocer los métodos de estudio de los fármacos mencionados
- Observar el efecto de estos fármacos en los animales de experimentación

INTRODUCCIÓN:

Para estudiar la capacidad analgésica de un fármaco es preciso provocar primero un dolor experimental. La inducción de este dolor puede lograrse por:

Métodos físicos: shock eléctrico, plancha caliente, pinchazo, pinzamiento, etc.

Métodos químicos: ácido acético (dolor irritativo) o con acetilcolina (dolor espasmódico).

En esta práctica se estudiará la acción analgésica de morfina y codeína frente al dolor inducido por métodos físicos

1-PINZAMIENTO DE LA COLA EN RATÓN

Animal:

Ratón

Fármaco-dosis:

Morfina (1mg/100 g)

Codeína (1 mg/100 g)

Material:

Clamps

Jeringas

Cronómetro

Agujas

Método:

1. Pesar un ratón. Anotar su peso.
2. Colocar un clamp en la cola (base) durante 30 segundos. Observar reacción del animal. Repetir 3 veces con intervalos de 2 minutos.
3. Inyectar por vía subcutánea morfina.
4. Colocar el clamp cada 2 minutos en la cola del ratón hasta que aparezca el efecto analgésico. Tomar el tiempo.

   t_1: tiempo transcurrido sin presencia del fármaco

   t_2: tiempo transcurrido bajo el efecto del fármaco

   Tiempo de analgesia: tiempo que tarda en ejercer el efecto el fármaco.

5. Repetir idem para codeína

6.Comparar resultados. Completar el cuadro.

Fármaco	Tiempo 1 (t_1)	Tiempo 2 (t_2)	Tiempo de analgesia
Morfina			
Codeína			

2-PLANCHA A 56ºC

Animal:

Ratón

Fármaco-dosis:

Morfina (1 mg/100g)

Codeína (1 mg/100g)

Material:

Plancha caliente a 56ºC

Jeringas

Cronómetro

Agujas

Método:

1- Pesar un ratón. Anotar su peso. Colocar por vez un ratón sobre la plancha caliente a 56 ºC.
2- Observar reacción del animal ante el estímulo calorífico. Tomar el tiempo.
3- Sacar el animal. Volverlo a colocar a los 2 minutos. Repetir tres veces esta operación. Sacar tiempo promedio de reacción (t_1).
4- Inyectar por vía subcutánea morfina.
5- Colocar el animal en la plancha caliente a los 2 minutos repitiendo la operación con intervalo de 2 minutos. Tomar el tiempo en que pierde la sensibilidad.

t_1: tiempo transcurrido sin presencia del fármaco

t_2: tiempo transcurrido bajo el efecto del fármaco

Tiempo de analgesia: tiempo que tarda en ejercer el efecto el fármaco.

6-Repetir idem para codeína

7-Comparar resultados. Completar el cuadro.

Fármaco	Tiempo 1 (t_1)	Tiempo 2 (t_2)	Tiempo de analgesia
Morfina			
Codeína			

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº 6:

ANESTÉSICOS GENERALES. ANESTÉSICOS LOCALES. BLOQUEANTES DE PLACA MOTORA

OBJETIVOS:

- Conocer las características más importantes de fármacos anestésicos generales y locales
- Conocer los métodos de estudio de los fármacos mencionados
- Conocer los diferentes blancos de drogas que pueden actuar en la unión neuromuscular y sus efectos.
- Comprender el mecanismo de acción de los bloqueantes de la placa motora.

ANESTÉSICOS GENERALES:

INTRODUCCIÓN:

En la experimentación farmacológica este grupo de fármacos son ampliamente utilizados, especialmente cuando las manipulaciones deben realizarse con el animal entero.

La anestesia es una de las técnicas más comunes en experimentación animal y todo investigador que manipule animales tiene que conocer sus fundamentos y las técnicas básicas empleadas. Su conocimiento facilita considerablemente el trabajo del investigador y mejora la calidad del mismo, pero al mismo tiempo reduce el sufrimiento producido a los animales.

En investigación con animales la anestesia debe cumplir los siguientes objetivos:

- Facilitar la manipulación del animal y/o la realización de procedimientos quirúrgicos o dolorosos.
- Proporcionar un trato humanitario a los animales, reduciendo al mínimo el sufrimiento asociado a dicha manipulación, evitando situaciones dolorosas, de angustia o ansiedad.
- Reducir al mínimo las consecuencias negativas de la cirugía sobre la fisiología del animal.
- Permitir la realización de investigaciones imposibles de hacer con el animal consciente.

Los componentes de la anestesia general son: hipnosis o sueño, analgesia, relajación muscular y bloqueo de la actividad refleja. La elección de una técnica anestésica depende de la especie, estado del animal, objetivo del experimento, tipo de procedimiento y duración, experiencia del investigador y medios disponibles. Una técnica anestésica incluye tres períodos: preanestesia, anestesia y postanestesia. La inducción anestésica consiste en pasar de la consciencia a la anestesia mediante la acción de fármacos anestésicos administrados por vía enteral, parenteral o inhalatoria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animal:

Ratas

Fármaco-dosis:

Uretano (1 g/kg)

Ketamina/Xilacina/Acepromazina 50/5/1 mg/kg

Material:

Jeringas

Agujas

Método:

-Pesar una rata. Administrar por vía intraperitoneal una solución de uretano 1g/kg.

- Pesar una rata. Administrar por vía subcutánea una solución de uretano 1 g/kg.

-Pesar una rata. Administrar por vía intraperitoneal Ketamina/Xilacina/Acepromazina 50/5/1 mg/kg

Observar efectos. Anotar el tiempo desde la inyección hasta observar efectos anestésicos. Controlar el tiempo que tarda en perder la motilidad espontánea (tiempo de inducción).

Fármaco	Vía de administración	Tiempo de inducción
uretano 1g/kg	intraperitoneal	
uretano 1g/kg.	subcutánea	
Ketamina/Xilacina/Acepromazina 50/5/1	intraperitoneal	

ANESTÉSICOS LOCALES

INTRODUCCIÓN:

La anestesia implica la ausencia de cualquier tipo de sensación, dolorosa o no, pero cuando afecta sólo a una parte del mismo se denomina anestesia local o regional. Esta técnica es muy eficaz porque actúa allí donde se produce el estímulo doloroso, reduciendo considerablemente los efectos secundarios derivados de su acción sistémica. Los fármacos más empleados son los anestésicos locales (lidocaína, mepivacaína, bupivacaína), los cuales pueden administrarse mediante infiltración del tejido (anestesia por infiltración) sobre el nervio que inerva la zona (anestesia de conducción) o sobre la médula espinal (anestesia espinal,

intratecal o epidural). La anestesia local por infiltración puede emplearse fácilmente en todas las especies animales, por ejemplo, alrededor de la incisión quirúrgica.

Métodos de estudio para anestésicos locales:

Explicación: ANESTESIA DE PLEXO LUMBAR

Se descerebra un sapo, se hace una incisión transversal debajo del esternón y a través de esta abertura se extraen las vísceras, liberando cuidadosamente los plexos lumbares para no lesionarlos.

Se fija el sapo en una plancha con la parte dorsal hacia abajo. Se fijan las patas anteriores y la cabeza, dejando las extremidades inferiores colgando verticalmente de la plancha.

Sumergir las extremidades inferiores del sapo en un vaso de precipitado que contiene ácido clorhídrico 0.1 N. El ácido actúa como un estímulo sensitivo, por acción refleja las extremidades se flexionan. Inmediatamente se sumergen en otro vaso de precipitación con solución fisiológica para lavarlas. Rodear el plexo lumbar con un algodón embebido en solución de cocaína al 5%. Dejar actuar un minuto y volver a sumergir las extremidades. Luego lavar.

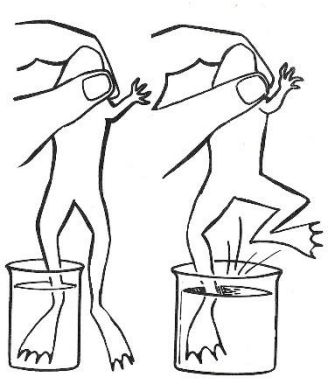


Fig. 6.1. Anestesia en plexo lumbar en sapo.
Fuente: Barastegui Almagro, 1977 (modificado).

Explicación: COCAINIZACIÓN DE CIÁTICO

Se descerebra y desmedula un sapo. Se diseca la pata y se aisla el ciático. Se liga el extremo distal. Se estimula con choques eléctricos el cabo periférico del ciático y se observa si hay contracción muscular. Luego se embebe un algodón con una solución de cocaína al 5%, envolviendo el nervio con el mismo en su parte media. A los 5 minutos se vuelve a estimular con choques aislados y se observa si hay reacción.

BLOQUEANTES DE PLACA MOTORA

INTRODUCCIÓN

Estos fármacos son utilizados clínicamente para interrumpir en forma parcial y reversible la conducción del impulso nervioso en la unión neuromuscular esquelética. Se clasifican en agentes despolarizantes y no despolarizantes.

ACTIVIDADES

Se utilizará el programa LIGAND-GATED ION CHANNELS AS DRUG TARGETS

Cuando finalice este programa el estudiante deberá ser capaz de dar ejemplos de canales iónicos asociados a receptor, describir su estructura básica y mecanismo de transducción y explicar cómo la interacción del ligando con el canal iónico está acoplado a un efecto biológico dentro de la célula.

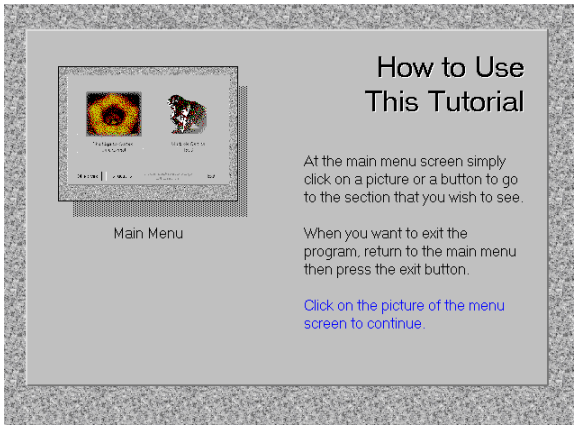
PROCEDIMIENTO

Cliquear en Start Program

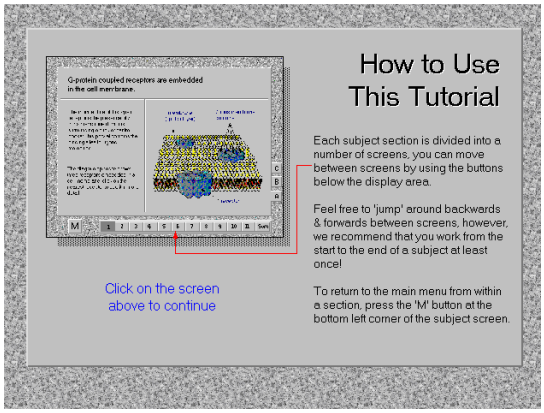
Cliquear en Objectives

Cliquear en Return to Main Menu

Cliquear en Instructions



En la pantalla principal, cliquear sobre la figura o un botón para ir a la sección que se desea ver.
Cuando necesite salir del programa, retornar al menú principal y luego presionar el botón: Exit.
Para continuar: cliquear en la figura del menú.



Cada sección está dividida en un número de pantallas.

Se puede mover entre pantallas, usando los botones (números) debajo del área abierta. Puede retroceder o avanzar como desee, no obstante, se recomienda ir desde el comienzo al final por lo menos una vez.

Para retornar al menú principal desde cualquier sección hacer click en M.

Dentro de la misma sección puede encontrar botones con letras, cada una es distinta.

Texto en azul: indica la instrucción que debe seguir.

Texto en rojo: puede cliquear para obtener mayor información.

> Permite seguir a otro texto o pantalla.

COMO REGLA GENERAL, SI EL CURSOR CAMBIA A : CLIQUEAR.

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº 7:
ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS, ANTIINFLAMATORIOS (AINES)
ANTICOAGULANTES, ANTIAGREGANTES PLAQUETARIOS, FIBRINOLÍTICOS

OBJETIVOS:

- Conocer las características más importantes de fármacos AINEs y anticoagulantes, antiagregantes plaquetarios y fibrinolíticos.
- Conocer los métodos de estudio y mecanismos de acción de los fármacos mencionados.
- Analizar el efecto de fármacos antiinflamatorios no esteroideos en el proceso inflamatorio.
- Fortalecer el conocimiento sobre las propiedades farmacológicas de los AINEs.
- Comprender las reacciones adversas de los fármacos AINEs.

ANALGÉSICOS, ANTIPIRÉTICOS, ANTIINFLAMATORIOS (AINEs)

INTRODUCCIÓN:

Los salicilatos y otros agentes similares utilizados para tratar la enfermedad reumática comparten la capacidad de suprimir los signos y síntomas de la inflamación, incluido el dolor. Estos fármacos también ejercen efectos antipiréticos. Dado que el ácido acetilsalicílico, tiene una serie de efectos adversos, se han desarrollado muchos otros AINEs en un intento por mejorar la eficacia del mismo y disminuir su toxicidad.

Son muy utilizados en diferentes situaciones clínicas, de tal forma que, en dosis únicas pautas cortas, son analgésicos efectivos en el tratamiento del dolor leve moderado de origen somático (músculosquelético), posoperatorio, visceral (dismenorrea, cólico renal) y óseo metastásico.

A dosis antiinflamatorias mantenidas se usan para el tratamiento sintomático del dolor e inflamación en enfermedades reumáticas (artritis reumatoide, espondiloartropatías inflamatorias, artrosis, reumatismos de partes blandas y otros procesos).

1-EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIINFLAMATORIA. MÉTODO DEL GRANULOMA (Método de Meier, Schuler y Desaulles)

Animal:

Ratas 120-150 g

Fármaco-Dosis:

Trocitos de algodón o gasa estéril de 50 mg

Fenibutazona 100 mg/kg

Alcohol yodado 10%

Ketamina-Xilacina-Acepromacina 50/5/1 mg/kg

Método:

Se trabaja con dos lotes de animales; un lote experimental con el fármaco antiinflamatorio en estudio y un lote control.

Se anestesian los animales, se depila la parte dorsal de la rata y se desinfecta con alcohol iodado. Se hace una pequeña incisión en la parte dorsal media y se introduce por ella una pinza de punta roma hasta alcanzar la parte escapular del animal. Se sutura la herida con un punto y se desinfecta con alcohol iodado. A los 7 días se sacrifican las ratas por inhalación de CO_2, se extraen los granulomas, se los pasa suavemente sobre papel de filtro y se pesan en balanza analítica. Este procedimiento se hace con los animales testigos. Con el lote experimental se sigue la misma técnica, excepto la administración de fenilbutazona, vía oral, una vez por día durante los 7 días.

Calcular la media y desviación estándar. Sacar conclusiones de la experiencia realizada.

2-EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN ANTIINFLAMATORIA. TEST DE LA CARRAGENINA

La presente práctica consistirá en valorar la acción de la fenilbutazona (derivado pirazólico) mediante el test de la carragenina. Consiste en la producción de un edema por la inyección intraplantar de carragenina.

Animal:

Ratas hembras de 150-200 g.

Fármacos-Dosis:

Suspensión de carragenina al 1% en solución fisiológica.

Fenilbutazona 100mg/kg.

Material:

Plestismómetro (para medir el volumen diferencial)

Agujas y jeringas

Sondas orogástricas

Fig. 6.1. Pletismómetro. Fuentes: elaboración propia.

Método:

Los animales se dejarán en ayunas unas 16 horas antes de realizar la prueba. Conviene que estén en un ambiente climatizado (22º C de temperatura y 65% de humedad) durante la duración de la experiencia.

La solución de carragenina se preparará momentos antes de la prueba. Se inyectarán los animales con un volumen de 0.1 ml de la suspensión de carragenina bajo la aponeurosis de la cara plantar de una extremidad posterior. La sustancia objeto de estudio (fenilbutazona) se administrará por vía oral 30 minutos antes de provocar el edema.

Se considerarán dos grupos de animales (5 en cada grupo). El grupo control recibirá solamente solución fisiológica (50 ml/kg por vía oral) y el grupo tratado recibirá la dosis de fenilbutazona 100 mg/kg.

Al cabo de tres horas de haber producido el edema se medirá el volumen en ambas patas, para valorar así el grado de tumefacción (GT) y establecer una relación entre el volumen total de ambas patas después de la inflamación (a) y el volumen total antes de la inflamación. Se representará:

$$GT = \frac{(a)}{(b)}$$

Resultados:

En general, la relación (a)/(b) va a ser diferente en el control y el tratado con el antiinflamatorio. El grupo control nos dará evidentemente el grado de tumefacción de un 100%.

El grupo tratado con el antiinflamatorio tendrá un grado de tumefacción mucho menor.
Se considera como dosis antiinflamatoria media (AD_{50}) a aquella dosis capaz de reducir el edema a la mitad de los animales.

PLESTISMÓMETRO

Es un sensor del incremento de volumen, especialmente diseñado para valorar el edema de pata de la rata. Consta de un recipiente que, al introducir la pata del animal, ocasiona un desplazamiento del nivel original del líquido, esa variación de volumen se transmite a un detector mediante un transductor eléctrico. El detector da un valor en unidades arbitrarias, por eso, previamente hay que calibrar el valor cero midiendo las variaciones de volumen que se producen al introducir las patas de los animales control.

3-EFECTO ADVERSO DE INDOMETACINA SOBRE MUCOSA GÁSTRICA DE RATA.

Animal:

Rata en ayunas de 24 h

Fármaco-dosis:

Indometacina 50 mg/kg

Etanolol absoluto

Material:

Jeringas de 10 ml

Sonda orogástrica para rata

Material de cirugía

Método:

Trabajar con 3 lotes de animales, pesar los mismos y anotar sus pesos. Administrar por vía oral los siguientes fármacos según los lotes:

Lote I: indometacina 50 mg/kg

Lote II: etanol absoluto 2 ml. (control positivo)

Lote III: Agua destilada 2 ml. (control negativo)

Inmediatamente colocarlos en las jaulas y esperar aproximadamente 1 hora para eutanasiar a los animales, por inhalación de CO_2.

Colocarlo en la bandeja con la parte dorsal hacia abajo, levantar la piel del abdomen con una pinza e incidirla logitudinalmente en la línea media con una tijera recta. Practicar una incisión en los músculos a la altura del estómago. Extraído el mismo se procede a abrirlo por la curvatura mayor y se debe verificar la presencia de lesiones de tipo ulceroso en el mismo.

Observarlo a simple vista o con la ayuda de una lupa.

FUNDAMENTO:

La indometacina (derivado del ácido indolacético) es de empleo rutinario como analgésico, antiinflamatorio, sobre todo en reumatología. Presenta diversas reacciones adversas, entre las más frecuentes están los trastornos digestivos: náuseas, vómitos, dolores abdominales y hasta hemorragias gastrointestinales o úlceras pépticas, en tratamientos con dosis elevadas y durante un período prolongado. Este fenómeno se atribuye a la inhibición de las prostaglandinas (éstas normalmente presentan acción protectora de la mucosa gástrica).

4-DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIPIRÉTICO DE PARACETAMOL EN CONEJO
(Mostración del equipamiento)

Los pirógenos son sustancias proteicas o lipopolisacáridos de origen específicamente bacteriano que, por inyección intravenosa dan lugar a escalofríos y a aumento de la temperatura corporal.

Estos productos pueden existir en el agua, incluso en la destilada, por lo que hay que tenerlo en cuenta a la hora de utilizar preparados inyectables. Para obviar este inconveniente es necesario bidestilar el agua en absolutas condiciones de asepsia y después realizar las pruebas biológicas de control.

El conejo es uno de los animales más sensibles a las variaciones de temperatura, por lo que se utiliza este animal para el control de pirógenos.

Animal:

Conejos de 2 – 3,8 kg

Fármaco-dosiss:

Solución fisiológica estéril y libre de pirógenos.

Solución de peptona al 1%

Vaselina.

Paracetamol

Material:

Aparato registrador de temperatura rectal (Equipo ELLAB con 15 termistores)

Cepos inmovilizadores

Jeringas y agujas

Método:

Una vez pesados los animales se colocan cada uno en un cepo inmovilizador y procede a colocarles el termómetro por vía rectal. Con una mano se levanta la cola del animal y con otra se introduce el electrodo más allá del esfínter interno del ano. Es conveniente lubrificar previamente el aplicador. Los animales permanecen así en el cepo durante una hora antes de ser inyectados.

Un día antes es aconsejable dejar a los animales en ayunas para evitar la defecación durante la prueba. Los animales permanecerán en instalaciones climatizadas, con una temperatura y un grado de humedad constantes. Estarán también protegidos frente a cualquier disturbio capaz de provocar excitación, ya que estímulos tales como el ruido pueden ser causa de hipertermia. Transcurrida la primera hora se hará un control de la temperatura. Se utilizarán aquellos animales con un control de temperatura no menor de 38.5 ni mayor de 39.8 ºC.

Dosificación:

Las jeringas y agujas deberán estar bien esterilizadas, para evitar introducir material con pirógenos. Los conejos se inyectarán en la vena marginal de la oreja a razón de 10 ml/kg de peso. Una vez inyectados, se controlará la temperatura rectal durante unas 4-5 horas después de la inyección.

Se considerarán dos grupos de animales de 5 conejos cada uno.

Un primer grupo se inyectará con solución fisiológica estéril y libre de pirógenos. El segundo grupo se inyectará con la solución de peptona (0.1 ml/kg), el tercer grupo con paracetamol.

Resultados:

Se considerará positiva la prueba cuando el incremento de temperatura sea superior a 0.6 ºC. Se comprobará que la solución fisiológica realmente es estéril ya que ha resistido al control; mientras que la solución de peptona produce hipertermia.

ANTICOAGULANTES, ANTIAGREGANTES PLAQUETARIOS, FIBRINOLÍTICOS

INTRODUCCIÓN:

La acción de los fármacos anticoagulantes se basa en la interferencia de los procesos normales de la coagulación a distintos niveles. Se estudiará la acción de:

- Anticoagulantes orales, que actúan interfiriendo con la vitamina K, fundamentalmente para la síntesis de protrombina y sus precursores.
- Anticoagulantes de acción “in vivo” e “in vitro” que impiden las reacciones que formarán la fibrina.
- Anticoagulantes de acción “in vitro”, que son aquellas sustancias que impiden la coagulación por acción descalcificante (eliminando el ion calcio) limitándose su aplicación clínica a hematología en el laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animal:

Rata

Fármacos- dosis:

Citrato de sodio 3.8%

Heparina 1%

Warfarina

Cloruro de calcio 5%

Material:

Baño María 37ºC

Tubos de hemólisis

Pipetas de 1 ml

Jeringas de 5 ml

Agujas 25/8

Método:

Se obtiene la sangre por punción cardíaca de una rata previa inhalación de CO_2. La sangre se recibe en tres tubos.

1- 0.1 ml de heparina +0.8 ml de sangre. Mezclar
2- 0.2 ml de citrato de sodio 3.8%. Mezclar
3- 0.2 ml de warfarina + 0.8 ml de sangre. Mezclar

Colocar los 3 tubos en Baño María 37 ºC

Observar

En los tubos que no haya coagulación agregar 0.2 ml de cloruro de calcio 5%.

Dejar 30 minutos en el baño. Observar.

Sacar conclusiones.

Tubos	1	2	3	4
Heparina	0.2 ml			
Warfarina		0.2 ml		
Citrato de sodio			0.2 ml	
Sangre	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml
Coagulación				
$CaCl_2$	0.2 ml		0.2 ml	
Coagulación				

TRABAJO PRÁCTICO DE AULA Nº 8:

MONITOREO TERAPÉUTICO DE FÁRMACOS. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y VARIACIÓN FARMACOLÓGICA

OBJETIVOS:

- Valorar la importancia clínica de la monitorización de fármacos terapéuticos.
- Conocer las modificaciones que producen los fármacos en los valores normales de algunos análisis clínicos.

MONITOREO TERAPÉUTICO DE FÁRMACOS

INTRODUCCIÓN:

El monitoreo de fármacos en terapéutica o control del tratamiento farmacológico es la evaluación de la eficacia y de la toxicidad de los fármacos en la práctica clínica. Su finalidad es individualizar el tratamiento farmacológico, adaptándolo a las necesidades de cada paciente.

El propósito del monitoreo de fármacos en terapéutica es lograr tratamientos más racionales, más eficientes y con menos efectos tóxicos para el organismo; constituye una práctica de laboratorio que ha experimentado grandes avances en los últimos años.

ACTIVIDADES:

1- Un somnífero tiene una vida media de 1 hora. Se administra a la dosis de 100 mg y el paciente se despierta cuando quedan sólo 12,5 mg en el organismo. ¿Cuántas horas dormirá el paciente? Administrando 200 mg del mismo fármaco, ¿cuánto tiempo más dormirá el paciente?

2- La concentración terapéutica de fenitoína es de 20 ug/ml. Aproximadamente el 95% de la sustancia está ligada a la albúmina sérica. En caso de uremia, hipoalbuminemia o en presencia de otras sustancias que desplacen a la fenitoína de sus puntos de fijación, la fracción fija puede llegar a descender hasta 90%. ¿cuál puede llegar a ser el efecto de la fracción libre del fármaco?

3- La tubocurarina tiene una vida media de 2 hs. Si se administran 0,165 mg, dejará de relajar la musculatura cuando quedan 0,0412 mg. ¿Cuántas horas puede durar una intervención quirúrgica si se administran 0,165 mg de tubocurarina?

4- Dado un medicamento cuyo rango terapéutico es de 20 a 60 ug/ml en una primera dosis inicial se administró un gramo por vía oral. Para una mejor comodidad del paciente se propone

un intervalo entre dosis de 12 hs. A las 4 hs. de la primera administración se alcanzó un nivel plasmático de 41,7 ug/ml. Calcule la dosis de mantenimiento.

$$\frac{\text{Dosis de mantenimiento}}{\text{Dosis inicial}} = \frac{\text{Nivel sanguíneo óptimo} - C_1\,(\tau + t_{máx})}{C_{1\ máx}}$$

C_1 : Concentración en sangre en la primera dosis al tiempo indicado entre paréntesis.

$C_{1\ máx}$: Concentración máxima en sangre obtenida en la primera dosis.

$T_{máx}$: Tiempo que corresponde a la concentración máxima.

τ: Intervalo propuesto entre dosis.

Protocolo: El “panel” de muestras consiste en 102 pacientes masculinos y femeninos. El grupo se compone de 72 varones y 30 mujeres con enfermedades no serias. Cada paciente recibió instrucciones de ayunar durante la noche. La siguiente mañana cada sujeto recibió una dosis del medicamento de 1 g en forma de suspensión acuosa, conteniendo 1% de metilcelulosa 400. La hora de administración en cada caso, era entre las 8 y 9 de la mañana. Tras la administración, se tomaron muestras de sangre y orina a intervalos regulares. En las muestras, se determinó por métodos químicos específicos, el medicamento inalterado.

Resultados: Los niveles medios de medicamentos en sangre y las cantidades acumulativas medias del mismo en orina, en función del tiempo tras la administración, se muestran en la siguiente tabla.

Niveles sanguíneos medios (μg/ml) y excreción acumulativa (mg) de un fármaco lentamente absorbido, tras la administración de 1 g.

Tiempo tras la administración (h)	Nivel sanguíneo (μg/ml)	Cantidad acumulativa en orina (mg)
1	20,4	10
2	32,9	23
3	39,1	46
4	41,7	70
6	40,8	119
8	36,4	166
10	31,2	206
12	25,8	242

16	17,8	293
20	12,5	325
24	8,0	352
28	6,0	366
32	3,9	378
36	2,7	383
40	1,8	389
48	-	400
56	-	400

5- El médico solicita los siguientes dosajes plasmáticos:

a) Fenobarbital y carbamazepina, a un paciente de 11 años que concurre a 2º año EGB.

b) Acido valproico, a un paciente de 15 años.

Resultados obtenidos:

Fenobarbital: 28 ug/ml

Carbamazepina: 3 ug/ml

Acido valproico: 5 ug/ml.

¿Cómo pueden interpretar los resultados en ambos casos?

6- El médico solicita al laboratorio las determinaciones de digoxina y K+ a un paciente de 75 años que padece insuficiencia cardíaca congestiva y que recibe digoxina y furosemida. El paciente presenta vómitos, diarrea y alteraciones en la percepción de los colores.

Valores obtenidos: digoxina 2.5 ng/ml; potasemia: 2.8 mEq/l. Interprete los valores hallados, interacciones medicamentosas y correlacione con los síntomas.

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y VARIACIÓN FARMACOLÓGICA

INTRODUCCIÓN:

Las pruebas de laboratorio se pueden ver afectadas por la toma de ciertos medicamentos, lo cual puede llevar a suponer que el paciente presenta un nuevo síndrome con la consiguiente toma de decisiones que puede ser contraproducente para él.

Un medicamento administrado antes de la toma de la muestra sanguínea puede provocar un aumento o una disminución del componente plasmático analizado. Este efecto puede asumir, esencialmente, dos aspectos:

- Aspecto puramente analítico: El medicamento y/o sus metabolitos pueden alterar, en una etapa cualquiera, la valoración de un componente. En Biología clínica se acordó denominar a este efecto interferencia analítica.
- Aspecto biológico: El medicamento provoca la modificación de un componente biológico por medio de un mecanismo fisiológico, farmacológico o toxicológico. Constituye lo que se ha convenido en denominar los efectos de los medicamentos sobre las pruebas de laboratorio.

ACTIVIDADES:

1-Niña de 4 años y 5 meses de edad, que acude al servicio de urgencias por presentar vómitos y somnolencia. En los antecedentes se constata ingesta de 19 comprimidos de paracetamol (400 mg). La dosis total de paracetamol fue de 7,2 g lo que corresponde a 576 mg/ kg. La ingesta se produjo aproximadamente dos horas antes de ser vista en el hospital. Se realizó lavado gástrico a la llegada no obteniéndose en el mismo, restos visibles del fármaco.

Al ingreso el hemograma, glucemia, creatinina, calcio, fósforo, ionograma, transaminasas, bilirrubina, amoniaco y pruebas de coagulación fueron normales.

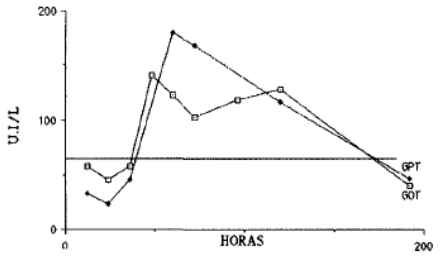
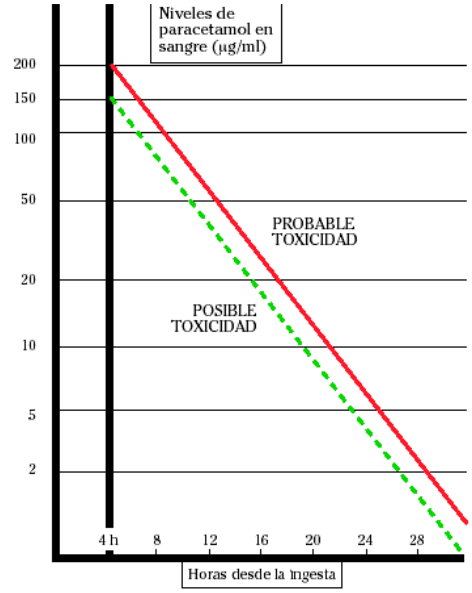


FIG. 1. *Niveles de GPT y GOT en suero en U.I/L.*

Los parámetros bioquímicos se mantuvieron normales a lo largo de la evolución a excepción de las transaminasas (Fig. 1).

Los niveles de paracetamol en sangre fueron de 101 y 73.9 ug/ml a las 12 y 15 horas de la ingestión desapareciendo a las 24 horas.



Valores de referencia:

GOT: hasta 38 UI/L,

GPT: hasta 48 UI/L.

a-¿Cuáles son los estadíos que se establecen y sus características, luego de una sobredosis con paracetamol?

b- Teniendo en cuenta los valores de concentración plasmática de paracetamol a las 12 y 15 horas, y utilizando el normograma de Rumack-Mattew,

¿Se puede pensar en una probable hepatotoxicidad grave? Explique.

c- ¿Por qué no se determinó la concentración plasmática de paracetamol cuando la niña ingresó al hospital?

2-Paciente de 58 años, con diagnóstico de Hipercolesterolemia Familiar, se encuentra bajo tratamiento con atorvastatina 10 mg/día. Se realiza un control médico:
Examen de laboratorio: CPK: 235 UI/L, GOT: 58 UI/L, GPT: 97 UI/L.
¿Cómo interpreta los resultados?
¿El médico suspendería atorvastatina de acuerdo a los resultados de laboratorio?
Valores de referencia:
GOT: hasta 38 UI/L,
GPT: hasta 48 UI/L.
CPK:
Hombre: entre 0 y 195 UI/l
Mujer: entre 0 y 170 UI/l.
3- ¿Qué efectos producen los salicilatos sobre el ácido úrico, en función de la dosis?
4- ¿Qué efectos producen los antagonistas de los receptores β adrenérgicos no selectivos sobre los lípidos?
5- Paciente varón de 65 años con hipertrofia benigna de próstata. Tratamiento hormonal: finasterida (5 mg/día)
PSA (Antígeno prostático específico):
Valor hallado: 3.9 ng/ml
¿Cómo interpreta el resultado obtenido?
Rangos de referencia PSA
30-39 años: 0 - 1.5 ng/ml
40-49 años: 0 – 3.0 ng/ml
50-59 años: 0 – 4.3 ng/ml
60-69 años: 0 – 5.9 ng/ml
70-79 años: 0 – 7.2 ng/ml

TRABAJO PRÁCTICO DE LABORATORIO Nº 9:

FÁRMACOS DIURÉTICOS. HORMONAS

OBJETIVOS:

- Conocer las características más importantes de fármacos diuréticos y hormonas
- Conocer los métodos de estudio de los fármacos mencionados
- Observar el efecto de estos fármacos en los animales de experimentación
- Obtener y analizar los datos de UVE en rata.

INTRODUCCIÓN:

El riñón es el principal órgano excretor de casi todos los agentes terapéuticos y de sus metabolitos. El estudio de la excreción urinaria es de gran interés farmacológico por dos razones principales: en primer lugar, porque sirve para detectar la presencia de fármaco o sus metabolitos en la orina, después de haber actuado en el organismo. En segundo lugar, porque muchos fármacos, aparte de la acción recomendada, pueden tener una acción diurética, como ha ocurrido con algunos hipoglucemiantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animal:

Rata de 150 a 200 g de peso

Fármaco-dosis:

Furosemida (100mg/Kg)

Solución de NaCl (1%)

Agua destilada

Material:

Probetas graduadas

Sondas orogástricas

Jeringas de 1 y 5 ml

Agujas 25/8

Jaulas metabólicas

Método:

Pesar los animales. Anotar sus pesos y administrar una sobrecarga acuosa de 5 ml. de solución salina/100 g de peso del animal por vía oral (sonda orogástrica).

Lote I: se le administra el diurético por vía intraperitoneal

Lote II: control, sin diurético.

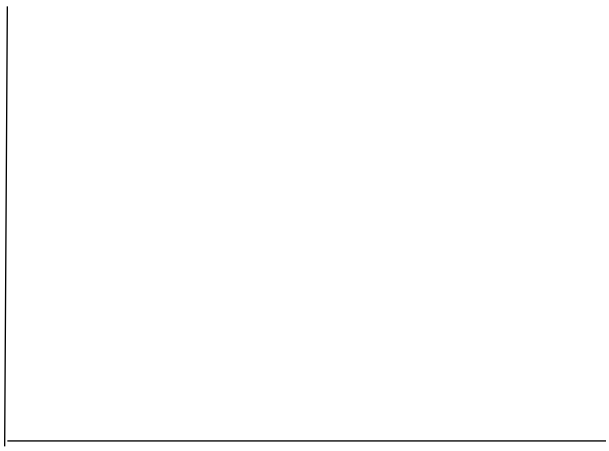
Inmediatamente se coloca cada rata en una jaula metabólica y cada 15 minutos durante 2 horas. Se lee el volumen de orina excretado por cada animal.

Tiempo en minutos	Lote I: recarga hídrica más diurético	Lote II: control con recarga hídrica solamente
0		
15		
30		
45		
60		
75		
90		
105		
120		

Calcular la excreción volumétrica urinaria (UVE):

$$UVE = \frac{\text{volumen recolectado}}{\text{Volumen administrado}} \times 100$$

Curvas de diuresis



Comparar resultados

HORMONAS

INTRODUCCIÓN:

Se realizarán experimentos con fármacos con actividad estrogénica y androgénica. Los fármacos que influyen en la reproducción (tanto para impedir la concepción como, más recientemente, para tratar la esterilidad) han transformado la sociedad a lo largo de la segunda mitad del pasado siglo.

Se conoce que los ciclos ováricos son los procesos de selección, maduración y crecimiento folicular hasta la ovulación y la preparación del útero para la gestación. Estos eventos ocurren a través de la intercomunicación entre los ovocitos, células de la granulosa, células de la teca y los sistemas inmunitario, endócrino y vascular. Todas esas estructuras y sistemas están regulados por señales hipotalámicas e hipofisiarias, que actúan mediante neurotransmisores y hormonas, además de la expresión de una gran variedad de genes. El equilibrio y la eficacia de estos procesos son indispensables para que la reproducción de la hembra sea exitosa.

1-OVARIECTOMIA

La extirpación bilateral de los ovarios en el animal de experimentación ocasiona la interrupción inmediata de la producción de hormonas sexuales femeninas (estrógenos).

Un control posterior de la citología vaginal sirve para confirmar en días posteriores si la extirpación ha sido completa o no.

Animal:

Rata hembra adulta

Fármaco-Dosis:

Ketamina/Xilacina/Acepromazina 50/5/1 mg/kg

Material:

Equipo de cirugía, tabla de contención.

Algodón, hilo

Método:

Se administra ketamina-xilacina-acepromacina de forma intraperitoneal.

Fig. 9.1. Ovario expuesto
Fuente: elaboración propia.

Una vez anestesiada, la rata se coloca en tabla de contención con la parte dorsal hacia arriba, se depilan las regiones lumbares y se desinfectan con alcohol. Se hace una pequeña

incisión en la región lumbar de cada lado y se separan cuidadosamente los planos anatómicos hasta localizar un paquete de grasa, en el cual se hallan inmersos el ovario y la trompa. Se reconocen estos elementos porque están muy irrigados. Se procede a ligar la trompa y se extirpa el ovario por encima de la ligadura. Se repite la misma operación del lado opuesto. Se suturan ambas incisiones. Se limpia la región con solución antiséptica.

Fig. 9.2. Ovario de rata.
Fuente: elaboración propia.

2-FROTIS VAGINAL EN LA RATA:

Mediante las observaciones citológicas del frotis vaginal (colpocitología) tenemos idea de las variaciones fisiológicas que tienen lugar en el ovario, principalmente en lo que respecta a la producción de hormonas (estímulo estrogénico).

Para poder obtener resultados válidos es indispensable efectuar varios frotis por ciclo. Además, el frotis vaginal tiene interés experimental a la hora de ensayar una teratogenia. La unión del macho con la hembra debe hacerse entre las fases de proestro y estro, manteniéndolos en la misma jaula unas horas. A continuación, se separa la hembra, y se le hace un frotis vaginal con el fin de determinar si ha habido o no copulación. Ello se comprueba porque microscópicamente se visualizan los espermatozoides con la típica cabeza en “gancho”. Este es el momento adecuado, una vez constatada la preñez, de iniciar el ensayo de teratogenia, procediendo a administrar el medicamento objeto de estudio.

Los efectos que las hormonas ováricas ejercen sobre el epitelio de las vías genitales, se manifiestan de modo muy evidente y fácil de observar sobre las células del epitelio vaginal, obtenidas mediante frotis. Esta técnica de interés clínico y experimental, es la que se va a ensayar en esta práctica.

Material:

Pipeta cuenta gotas

Portas

Solución fisiológica

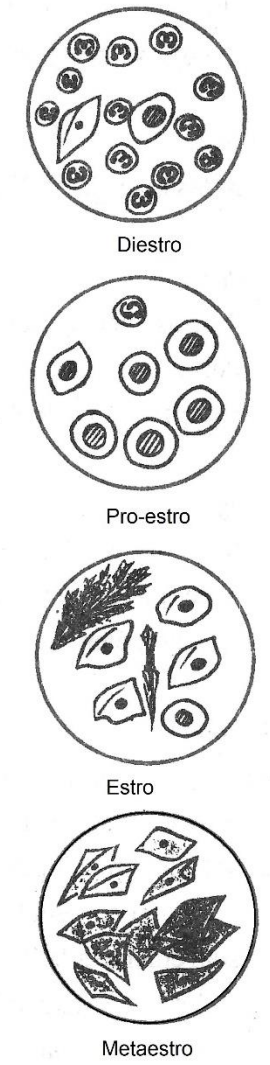
Método:

Frotis: se sujeta al animal, se introduce en el orificio vaginal unas gotas de solución fisiológica, mediante la pipeta cuentagotas. Seguidamente, mediante aspiración se recoge el contenido.

Fig. 9.3. Frotis de rata.
Fuente: elaboración propia.

Se extiende de manera uniforme este contenido sobre un portaobjeto, se coloca un cubreobjeto y se observa en el microscopio.

Mediante la observación microscópica de los frotis se pueden distinguir las siguientes fases:



DIESTRO: en el campo microscópico aparecen abundantes leucocitos y muy escasas células epiteliales de la capa basal.

PROESTRO: Esta fase coincide con gran aumento del tamaño del ovario, debido a la presencia de abundantes folículos. Además, en la vagina se aumenta un progresivo engrosamiento epitelial.

En el frotis se presentan escasos leucocitos (- 10%), abundantes células epiteliales de núcleo redondeado y voluminoso y citoplasma basófilo (+ 60%), y algunas, muy escasas, células cornificadas de los estratos superiores (- 30%). En la rata esta fase dura aproximadamente unas 12 horas.

ESTRO: Coincide esta fase con el máximo aumento de actividad estrogénica. Microscópicamente se observan escasos leucocitos (- 10%), muy pocas células epiteliales (- 25%) y un gran aumento de células cornificadas, con núcleos picnóticos.

En esta fase pueden observarse imágenes en forma de “hojas de helecho”, típicas de la cristalización del moco vaginal.

METAESTRO: En esta fase se inicia la regresión del epitelio vaginal, coincidiendo con la presentación de cuerpos lúteos en el ovario. Paulatinamente van desapareciendo las células cornificadas y aumentando los leucocitos y as células epiteliales de capas basales, núcleo redondeado.

Fig. 9.4. Fases de las células del epitelio vaginal.
Fuente: Barastegui Almagro, 1977 (modificado).

3-ORQUIECTOMÍA

Los animales privados de los testículos han sido utilizados para valorar las sustancias con acción androgénica, basándose en el hecho de que los animales jóvenes así castrados presentan, al cabo de un mes una próstata y unas vesículas seminales escasamente desarrolladas. La administración posterior de sustancias con acción androgénica consigue de nuevo aumentar su tamaño.

Animal:

Rata macho adulta

Fármaco-Dosis:

Ketamina/Xilacina/Acepromazina 50/5/1 mg/kg

Material:

Equipo de cirugía

Fig. 9.5. Testículo de rata macho. Fuente: elaboración propia.

Método:

Se administra ketamina-xilacina-acepromacina de forma intraperitoneal. Cuando el animal esté anestesiado se depila la región del escroto en ambos lados y se hacen incisiones verticales por debajo de la ligadura. Una vez realizada la extirpación se vuelven a suturar las heridas dando un par de puntos en cada lado.

4-EFECTO DEL PROPIONATO DE TESTOSTERONA EN RATAS MACHO ADULTAS CASTRADAS

Animales:

Ratas machos castradas

Fármaco-Dosis:

Propionato de testosterona 5 mg/kg

Material:

Balanza

Jeringa de 1 ml

Aguja 25/8

Método:

Las ratas macho castradas se dividen en dos lotes.

Lote I: se administra testosterona (1 mg/ml) durante 5 días.

Lote II: solvente oleoso (0.1 ml/100 g).

Luego de transcurridos los 5 días. Eutanasiar a los animales por inhalación de CO_2. Hacer una incisión abdominal y descubrir el sistema genital masculino. Observarlos resultados obtenidos y discutirlos.

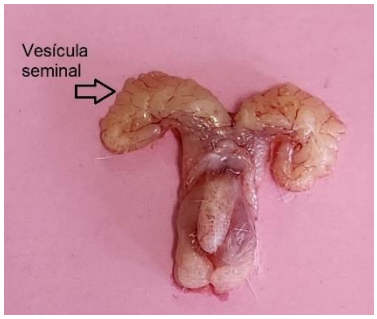


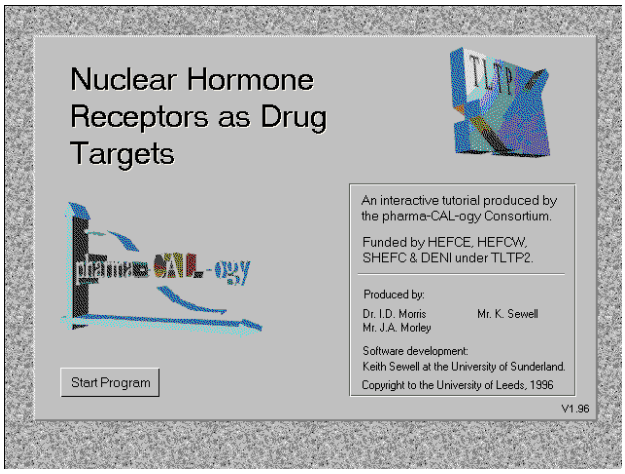
Fig. 9.6. Vesículas seminales de rata macho. Fuente: elaboración propia

ACTIVIDADES:

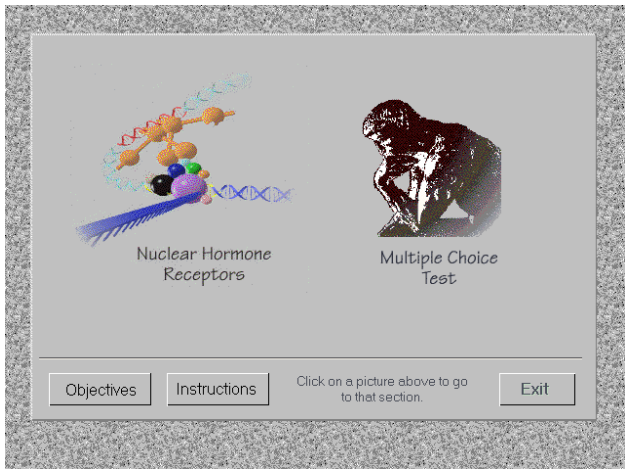
Se utilizará el programa NUCLEAR HORMONE RECEPTORS AS DRUG TARGETS. Cuando finalice este programa el estudiante deberá ser capaz de entender:

- El mecanismo por el cual ciertas hormonas y fármacos ejercen sus efectos alterando la actividad transcripcional en el núcleo de una célula diana.
- La estructura de un receptor nuclear hormonal típico y cómo las diferentes partes del receptor contribuyen a la respuesta.
- El mecanismo por el cual se cree que actúan los agonistas y antagonistas de los receptores nucleares de hormonas, utilizando los estrógenos como ejemplo.

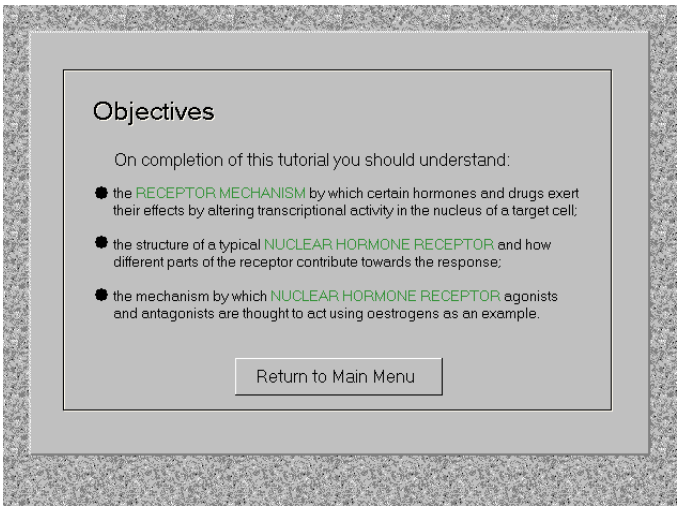
PROCEDIMIENTO



Cliquear en Start Program

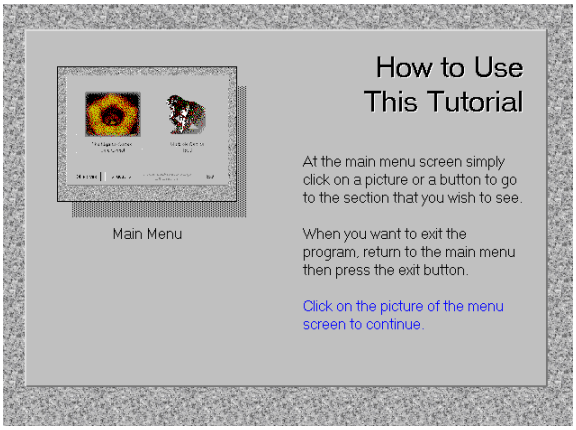


Cliquear en Objectives



Cliquear en Return to Main Menu

Cliquear en Instructions



En la pantalla principal, cliquear sobre la figura o un botón para ir a la sección que se desea ver.

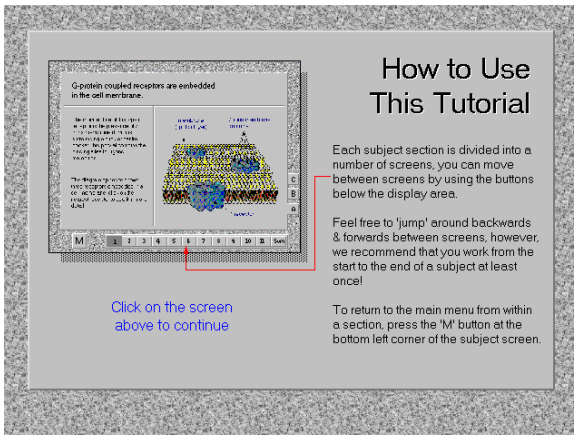
Cuando necesite salir del programa, retornar al menú principal y luego presionar el botón: Exit.

Para continuar: cliquear en la figura del menú.

Cada sección está dividida en un número de pantallas.

Se puede mover entre pantallas, usando los botones (números) debajo del área abierta. Puede retroceder o avanzar como desee, no obstante, se recomienda ir desde el comienzo al final por lo menos una vez.

Para retornar al menú principal desde cualquier sección hacer click en M.



Dentro de la misma sección puede encontrar botones con letras, cada una es distinta.

Texto en azul: indica la instrucción que debe seguir.

Texto en rojo: puede cliquear para obtener mayor información.

Permite seguir a otro texto o pantalla.

COMO REGLA GENERAL, SI EL CURSOR CAMBIA A : CLIQUEAR.

Referencias

Álvarez Gómez de Segura, I. (2024). Métodos de anestesia, analgesia y eutanasia. https://www.unrc.edu.ar/unrc/coedi/docs/guiaanestesia-eutanasia.pdf

Baños, J. E., & Ruiz-Barría, G. (2006). La evaluación del dolor experimental en el laboratorio: los modelos de dolor neuropático en animales. Revista de la Sociedad Española del Dolor, 13(8), 542-552. https://scielo.isciii.es/pdf/dolor/v13n8/revision1.pdf

Barastegui Almagro, C. (1977). Esquemas y prácticas de Farmacología. Espaxs.

Bennett, G. J. (2012). What is spontaneous pain and who has it? Journal of Pain, 13(10), 921–929. https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.05.008

Florez, J., Armijo, J. A., & Mediavilla, A. (2013). Farmacología Humana. Elsevier Masson.

Fuentes, L. B. (2000). Guía de Trabajos Prácticos Farmacología. Licenciatura en Bioquímica. [Guía no publicada]. Universidad Nacional de San Luis.

González Guevara, M., Losada Camacho, M., & Garavito Cárdenas, G. (2008). Evaluación de la opinión de estudiantes de farmacia sobre la implementación de alternativas basadas en computador para el proceso enseñanza-aprendizaje de la farmacología experimental. Revista de la Facultad de Medicina, 56(1), 43-53. https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/31954/18594-60373-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Goodman, L. S., Brunton, L., Knollmann, B. C., & Hilal-Dandan, R. (2018). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (13.ª ed.). McGraw-Hill Education

Guzmán, J., Juárez, A. O., Fuentes, L. B., María, A. O. M., & Wendel, G. H. (1995). Guía de Trabajos Prácticos Cátedra de Farmacología, Carrera Licenciatura en Bioquímica. [Guía no publicada]. Universidad Nacional de San Luis.

Hernández López, L. E., Mondragón Ceballos, R., & Barrios De Tomasi, J. (2023). Evaluación de las fases del ciclo estral de la rata mediante frotis vaginales y mediciones hormonales. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, 7(2), 7482-7505. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i2.5877

Izquierdo, B., González, H., Aldana, J., Dueñas, A., & Guisasola, F. J. A. (1990). Intoxicación por paracetamol. Presentación de un caso. Boletín de Pediatría, 31 (135), 45-48.

Katzung, B. G., & Trevor, A. J. (2021). Basic & Clinical Pharmacology (15.ª ed.). McGraw-Hill.

Lorenzo, P., Lorenzo-Velázquez, B., & Pomar, C. (2021). Farmacología clínica y terapéutica esencial. Editorial Médica Panamericana.

Mogil, J. (2009). Animal models of pain: progress and challenges. Nat Rev Neurosci 10, 283–294. https://doi.org/10.1038/nrn2606

Rang, H. P., Ritter, J. M., Flower, R. J., & Henderson, G. (2019). Rang and Dale's Pharmacology (8th.ª ed.). Elsevier.

Vogel, G. H. (1997). Drug discovery and evaluation: Pharmacological Assays. Editorial Springer.