

## MECANISMOS DE ACCION DE LA ANESTESIA GENERAL

\*MARIO VILLAREJO-DÍAZ

### RESUMEN

Los mecanismos de acción de la anestesia destacan la interacción hidrofóbica. Muchos de los estudios de los mecanismos de acción mencionan la importancia de la doble capa de lípidos. La solubilidad en lípidos es aparentemente esencial para la actividad, sin embargo, otras interacciones con otros componentes de la membrana son también importantes. Como las propiedades físicas como la solubilidad en los lípidos son gobernadas por fuerzas intermoleculares, estas propiedades, comparadas con la potencia anestésica han sido el foco primario de investigación de los mecanismos físicos de la anestesia y han proporcionado las bases para postular una teoría unitaria de la anestesia que sugiere que todos los anestésicos actúan a través del mismo mecanismo. En este artículo se revisan las principales teorías acerca del mecanismo de acción de la anestesia.

**Palabras clave:** Mecanismos de la anestesia. Sitio hidrofóbico. Membrana celular. Expansión. Volumen crítico. Fluidificación. Interacción anestésico-proteína.

### SUMMARY

The action mechanisms of anesthesia emphasize the hydrophobic interaction. Many of the studies of mechanism of action have stressed the lipid bilayer. Lipid solubility is apparently essential for activity, yet does not always predict anesthetic effectiveness. Other interactions with different others structures of the cell membrane are very important. Since physical properties such as lipid solubility are governed by intermolecular forces, these properties, compared to anesthetic potency, have been the primary focus of research into the physical mechanism of anesthesia and have led to the basis for a unitary theory of anesthesia which suggests that all anesthetics act via the same physical mechanism.

This study reviews the principal theories on the action mechanisms of general anesthesia.

**Key words:** Mechanisms of anesthesia: Hydrophobic site. Cellular membrane. Expansion. Critical volume. Fluidization. Anesthetic-protein interactions.

**E**L estudio del mecanismo de acción de los anestésicos es tan antiguo como la anestesia misma. La literatura sobre este tema se ha desarrollado durante un siglo. Sin embargo, todavía permanece sin aclararse cómo los anestésicos ejercen sus efectos farmacológicos sobre los tejidos excitables y producen el fenómeno fisiológico conocido como anestesia.

Tres problemas limitan la posible explicación de cómo actúan los anestésicos generales. El primero consiste en la velocidad con la cual la anestesia puede ser producida. Los anestésicos pueden inducir inconsciencia en segundos, y en forma semejante, el despertar puede ser rá-

pido al discontinuarse la anestesia. Esta observación descarta a los cambios bioquímicos a largo plazo como una base para explicar la anestesia. Por ello, las teorías que sobreviven sugieren alteraciones o perturbaciones físicas de eventos bioquímicos a corto plazo como el mecanismo de acción de la anestesia general. El segundo es la diversidad en la estructura química de los agentes anestésicos que dificulta el estudio de la relación estructura-actividad. La anestesia puede ser producida por una amplia variedad de agentes químicos, desde gases como el xenón y el óxido nitroso, líquidos volátiles como el enflurano y el halotano, hasta moléculas esteroides.<sup>1 3</sup>

\*Médico anesthesiólogo. Departamento de Anestesiología Hospital de Especialidades Centro Médico "La Raza", IMSS. Profesor titular Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México. Recibido: 28 de octubre de 1984. Aceptado: 20 de diciembre de 1984. Sobretiros: Mario Villarejo Díaz. Departamento de Anestesiología. Hospital de Especialidades Centro Médico La Raza. Jacarandas y Calzada Vallejo. México, D.F. CP. 02990.

La diversidad de estructura química de los anestésicos sugiere una falta de un sitio receptor específico, pero la excelente correlación de solubilidad en lípidos con la potencia implica una interacción con regiones hidrofóbicas de la membrana. Como las propiedades físicas, la solubilidad en lípidos gobernada por fuerzas intermoleculares; estas propiedades, comparadas con la potencia anestésica, han sido el foco primario de investigación de los mecanismos de acción de los anestésicos y han proporcionado las bases para una teoría unitaria de la anestesia que sugiere que todos los anestésicos actúan a través de un mecanismo físico-químico.<sup>4,5</sup>

El tercer problema es consecuencia de la complejidad del sistema afectado, el sistema nervioso central (SNC), debido primariamente a la heterogeneidad histológica de los diferentes tipos de células que lo integran y a la complejidad de la estructura y función de la membrana celular básica que también puede variar con los tipos de célula.<sup>1</sup> A pesar de estas dificultades el progreso en el conocimiento del mecanismo de acción de los anestésicos generales es evidente y parece que en un futuro próximo podrán ser explicados a nivel molecular.

Existen revisiones excelentes publicadas sobre el tema en los últimos años.<sup>3,8</sup> En el presente trabajo no se ha tratado de revisar toda la literatura y sólo se mencionan los aspectos más relevantes sobre los posibles mecanismos de acción de la anestesia general.

#### AGENTE ANESTÉSICO

Como una amplia variedad de agentes químicos son capaces de producir un estado anestésico, un *anestésico* puede ser definido como un medicamento o fármaco capaz de bloquear de manera transitoria la conducción neural sin efecto significativo sobre el potencial remanente de membrana.<sup>2</sup> Esta definición incluye muchos agentes que usualmente no son clasificados farmacológicamente como anestésicos, tales como algunos tranquilizantes, antihistamínicos, anticonvulsivos y detergentes.<sup>1,2</sup> En esta revisión, no se hace distinción entre anestésicos locales y generales, aunque sus mecanismos de acción a nivel molecular pueden ser diferentes.<sup>9,10</sup>

#### ESTADO ANESTÉSICO

El estado fisiológico conocido como anestesia o estado anestésico puede ser definido como una alteración reversible de la conducta neuronal inducida por medicamentos que conducen a una inactivación progresiva de los procesos facilitadores y/o inhibitorios en el sistema nervioso central (SNC). Es difícil una definición precisa del estado anestésico en ausencia de un concepto claro o definición de conciencia.<sup>11</sup>

La anestesia ha sido considerada como un resultado de una desorganización funcional, pero también como una excitación en varios niveles de actividad neuronal del SNC. Los estudios neurofisiológicos sobre anestesia han

proporcionado evidencia suficiente para apoyar el concepto de que no existe un solo estado de anestesia, sino uno continuo, o una serie de progresión multidireccional de estados anestésicos, representados por excitación y depresión del SNC. Esta inactivación progresiva de procesos facilitadores y/o inhibitorios en el SNC produce el "estado anestésico".<sup>12,13</sup> La anestesia, a menudo asociada con una pérdida de la responsividad y amnesia, no debe ser sinónimo sólo de depresión de la conducta neuronal. Como la estructura molecular de los anestésicos puede influir en el efecto neurofisiológico observado en el ser humano<sup>14</sup> y los trazos electroencefalográficos han sido asociados con la administración de los anestésicos en forma individual, es difícil implicar un espectro similar de actividad farmacológica para todos los anestésicos.<sup>15,16</sup>

#### SITIO DE ACCION

##### Vías axónicas y sinápticas

Se ha demostrado que muchos agentes anestésicos bloquean la transmisión sináptica en concentraciones menores que las requeridas para bloquear la conducción axónica;<sup>17-19</sup> por lo tanto, generalmente se acepta que los anestésicos generales actúan en algunos aspectos de la fisiología de la transmisión sináptica. En forma alternativa, los anestésicos gaseosos y volátiles son capaces de bloquear la conducción a lo largo de los nervios periféricos.<sup>22</sup> Las concentraciones necesarias para bloquear la conducción axónica periférica son aproximadamente de 10 a 20 veces mayores que para la anestesia general.<sup>2,20</sup> Una explicación de esta diferencia ha sido el aumento de sensibilidad de las sinapsis químicas en el SNC,<sup>8,17,23</sup> además, es factible que diferentes sinapsis pueden tener grados variables de estabilidad y susceptibilidad a los anestésicos<sup>8</sup> y pueden existir variaciones en los axones de diámetro diferente.<sup>18,24,25</sup>

También se ha sugerido que la anestesia general es una forma de anestesia local,<sup>2</sup> debido a que se ha observado que el bloqueo de la conducción en axones terminales finos de nervios no mielinizados causa inhibición sináptica. Que los mecanismos de acción de la anestesia local y general son similares permanece aún sin aclararse. Los mecanismos "físico-químicos" descritos en esta revisión pueden no implicar a los anestésicos locales. Los mecanismos físicos específicos para los anestésicos locales han sido revisados por Strichartz<sup>10</sup> y también discutidos ampliamente por Hille.<sup>26,27</sup>

Existe evidencia que sugiere que la alteración de los potenciales excitatorios postsinápticos (EPSP) por agentes anestésicos ocurre en más de un sitio.<sup>28,29</sup> Algunos experimentos han demostrado que los agentes anestésicos disminuyen la cantidad de liberación del transmisor excitatorio<sup>3</sup> y también aumentan la liberación del transmisor inhibitorio.<sup>30</sup> Además, se ha postulado que las propiedades de la membrana postsináptica son alteradas por una disminución en la quimiosensibilidad del receptor al neuro-

transmisor<sup>2</sup> o bien a través de una estabilización de la membrana postsináptica, inhibiendo así la generación del potencial de acción.<sup>23</sup> Sato y col.<sup>32</sup> han sugerido que la actividad anestésica es el resultado de la alteración de las propiedades de cable de las dendritas de la neurona postsináptica, es decir, un aumento en el potencial y conductancia de la membrana postsináptica. Barker postula que el efecto primario de los agentes anestésicos es una depresión selectiva de la excitación postsináptica.

Los resultados obtenidos en experimentos sobre sinapsis periférica sugieren una doble acción de la actividad anestésica, es decir, una disminución en la liberación del transmisor y una depresión de la sensibilidad de la membrana postsináptica o sitio receptor.<sup>31, 33</sup> La falta de conocimientos sobre el sitio receptor en el cerebro presenta dificultades en la interpretación de los datos; así se ha mencionado, la evidencia indirecta o sugestiva de una doble acción en el SNC. Aunque la mayor parte de los datos no son uniformes, parece existir concordancia en que todos los anestésicos estudiados hasta ahora causan disminución de la amplitud del potencial postsináptico excitatorio y reducen el tiempo durante el cual los canales iónicos postsinápticos permanecen abiertos.

### MEMBRANA CELULAR

Los efectos primarios de los anestésicos ocurren a nivel de la membrana celular.<sup>2, 34</sup> La membrana celular generalmente se considera como una estructura de mosaico líquido.<sup>35</sup> Está compuesta de una matriz de un fosfolípido de dos capas incrustado con proteínas funcionales. Los fosfolípidos de la membrana son anfifáticos, es decir, tienen regiones polar y apolar y se posicionan de una configuración de dos capas cuando se está en un ambiente líquido. Las largas cadenas de hidrocarbóno apolar son dirigidas hacia el centro de las dos capas y los grupos de la cabeza polar permanecen en contacto con la fase acuosa en la superficie.

Las proteínas de la membrana a menudo se observan como entidades globulares que están ligadas al exterior e interior de la doble capa; algunas penetran la membrana parcialmente, otras completamente. Las proteínas también son anfifáticas. Otras estructuras intracelulares como microtúbulos y microfilamentos forman una red compleja o citoesqueleto que probablemente ayudan en la organización de los componentes de la membrana.<sup>34</sup> Las membranas celulares son asimétricas en estructura y función.<sup>36</sup> Aunque algunas de las proteínas pueden estar inmóviles, existe una difusión lateral de varios constituyentes de la membrana.<sup>37</sup> La membrana puede ser considerada entonces como un líquido bidimensional<sup>38</sup> y el movimiento lateral de los componentes celulares puede estar involucrado en la función de la célula y su respuesta al medio externo. La membrana, por lo tanto, es una estructura dinámica. Aunque el conocimiento de la composición y función de la membrana ha avanzado impor-

tantemente en los últimos años,<sup>34</sup> la región lípida de dos capas es relativamente mejor conocida y a menudo es puesta de relieve en la descripción de las interacciones anestésico-membrana. La investigación en el área de interacciones lípido-proteína es relativamente nueva y el estado de estos estudios ha sido revisado por Gennis y Jones.<sup>38</sup>

### LOCALIZACION INTRAMEMBRANA

La localización exacta de las regiones en la membrana celular que pueden ser consideradas como el sitio específico de acción para los anestésicos aún se desconoce. Se han presentado varias sugerencias a través de los años que abarcan todos los componentes y/o fases principales en el interior de la membrana, por ejemplo: lípido, proteína, lipoproteína y agua celular.<sup>2</sup> Los sitios hidrofóbicos o no acuosos han recibido preferencia; sin embargo, existe la posibilidad de que esté involucrada más de una región. Los intentos para definir el sitio de acción molecular de los anestésicos forman la base de las teorías físicas tempranas de la anestesia. La diversidad de estructura química de una gran cantidad de agentes que pueden producir anestesia ha predisposto a muchos investigadores a sugerir que la interacción no puede ocurrir a través de un mecanismo específico (receptor), sino que se lleva a cabo mediante mecanismos inespecíficos o fisico-químicos (sitio hidrofóbico). Esto ha llevado a la teoría del "sitio hidrofóbico". Considerando la gran cantidad de sitios hidrofóbicos en la membrana, ésta podría ser considerada como un receptor.

### SELECTIVIDAD EN EL SITIO DE ACCION

Un gran número de agentes químicos puede interactuar con receptores específicos en células diferentes. Estos fármacos son considerados por los farmacólogos como medicamentos específicos porque poseen una estructura molecular o configuración que se ajusta a los receptores y que se correlaciona con su actividad biológica. Un análisis comparativo de la estructura con la actividad recibe el nombre de *relación estructura-actividad* (REA). Es evidente que muchas células, o membranas celulares pueden distinguir o reconocer una gran variedad de estructuras químicas y mostrar una respuesta biológica correspondiente en relación a esa estructura. Esto destaca la diversidad molecular de la membrana celular. La falta de una estructura química común entre los anestésicos tiende a sugerir que la membrana o sitio de acción no es capaz de reconocer o seleccionar una configuración específica de estructura química, y entonces, es afectada indistintamente por la mayor parte de compuestos que son capaces de interacción hidrofóbica. La selectividad del sitio anestésico, sin embargo, existe, aunque quizá sutil cuando se le compara con la interacción específica fármaco-receptor. Las observaciones frecuentes por muchos investigadores de fenómenos excitatorios dependientes de

anestésico y la variación en la actividad del patrón sugieren que el sitio de hecho es capaz de responder a diferentes estructuras sencillas. La selectividad puede existir en un sitio de acción comparable a la interacción clásica fármaco-receptor, o en sitios múltiples.<sup>1</sup> Estos sitios pueden poseer características físicas similares que proporcionarían una explicación para las correlaciones entre potencia y solubilidad en lípidos. Los sitios múltiples también podrían explicar la diferencia en sensibilidad de varios tipos de células y también la selectividad exhibida a nivel de sinapsis. Una relación estructura-actividad existe para ciertos depresores, por ejemplo, los barbitúricos y los anestésicos esteroides.

Aunque la estructura y organización de lípidos de dos capas no son tan complejas como las membranas neuronales, experimentos recientes han mostrado que los liposomas son capaces de un alto grado de discriminación estructural. Los anestésicos pueden interactuar con un sitio crítico y a través de perturbaciones estructurales, ordenadas o desordenadas, producen una depresión de los componentes funcionales esenciales<sup>39</sup> o perturban selectivamente diferentes lípidos de la membrana.<sup>40</sup>

Aunque parece existir una modalidad común entre la mayor parte de anestésicos, sería una sobresimplificación asumir que todos los anestésicos actúan por un mecanismo común a nivel celular. El mecanismo preciso de los eventos secuenciales que siguen a la interacción sencilla con sitios hidrofóbicos puede diferir.

#### MECANISMOS DE ACCION

Muchas de las teorías iniciales acerca del mecanismo de acción de los anestésicos son resultado de correlaciones entre la potencia anestésica con varias propiedades físicas de estos agentes. Una relación común (propiedad fisicoquímica) puede explicar sólo las diferencias en potencias relativas y la capacidad de los diversos compuestos para alcanzar el sitio activo en el medio hidrofóbico de la membrana celular. Este enfoque al estudio de los mecanismos de acción ha sido puesto en duda, pues estas propiedades se relacionan sólo con la fuerza intermolecular de las moléculas de anestésicos y constituyentes de la membrana. Este método proporciona alguna información en cuanto al sitio de acción, pero muy poca sobre el mecanismo de acción. Muchos de estos estudios emplean una serie homóloga que obviamente sigue a relaciones regulares. La mayor parte de los anestésicos sigue una relación relativamente sencilla entre propiedad física (liposolubilidad) y potencia anestésica, excepto los compuestos completamente fluorinados que tienen fuerza intermolecular débil.

La relación simple de la mayor parte de los anestésicos no explica los diversos patrones de actividad observados a nivel celular ni permite deducir la farmacología precisa de estos agentes. Así, las diversas teorías propuestas para la anestesia hasta ahora sólo han proporcionado

reglas de anestesia más que explicar los mecanismos de acción.

#### TEORIAS HIDROFOBICAS (Lípidos de la membrana)

Desde hace 100 años se ha observado una fuerte correlación entre potencia anestésica y solubilidad en aceite para una amplia variedad de agentes.<sup>2</sup> Este hecho condujo a la teoría clásica de Meyer y Overton o más bien regla de la anestesia. K.H. Meyer<sup>2</sup> actualizó la teoría original de H.H. Meyer y Overton y propuso que "la narcosis (anestesia) comienza cuando cualquier sustancia químicamente indiferente ha alcanzado una cierta concentración molar en los lípidos de la célula. Esta concentración depende de la naturaleza del animal o célula pero es independiente del narcótico". Los márgenes de concentraciones de anestésico en la fase de aceite era más bien estrecho, de 0.03 a 0.06 moles del medicamento por litro de aceite.<sup>2</sup> La relación entre concentración en la fase de aceite y la fase acuosa es el coeficiente de partición. El grado de partición de varios anestésicos ha sido estudiada en varios sistemas de solvente/acuoso, en los cuales las propiedades fisicoquímicas de los solventes están bien caracterizadas. La propiedad más adecuada es el parámetro de solubilidad delta que proporciona una medida de la densidad de energía cohesiva o atracción de las fuerzas intermoleculares en el solvente. Para la mayor parte de anestésicos existe una correlación relativamente buena entre delta y la potencia anestésica; sin embargo, los compuestos fluorinados difieren considerablemente. La desviación mínima para todos los anestésicos examinados ocurre cuando se emplea el benceno como solvente. El benceno tiene un parámetro de solubilidad de 9.2 que sugiere que el sitio de acción de los anestésicos tiene una delta de aproximadamente 9 (Joules/cm<sup>3</sup>). 1/2 Mullins ha sugerido que el sitio para el bloqueo sináptico puede tener una delta igual a 10. Ambos valores están cercanos al valor para los hidrocarburos líquidos.

Un enfoque para establecer la existencia de una concentración definitiva en la fase lipídica de la membrana es el de Ferguson,<sup>41</sup> quien señaló que la actividad termodinámica puede ser calculada de la concentración isonarcótica en equilibrio definida en relación al estado líquido puro. Las actividades termodinámicas para una variedad de anestésicos fueron calculadas entre 10<sup>-2</sup> y 10<sup>-1</sup> (fracción de mol) en concentraciones equianestésicas. Los estudios de Ferguson se conocen como Principio de Ferguson que postula que "la actividad biológica (anestesia) de un fármaco se correlaciona con su actividad termodinámica". La siguiente ecuación se refiere al principio de Ferguson:

$$\text{Indice anestésico} = \frac{\text{Concentración efectiva}}{\text{Concentración de saturación}}$$

Esto fue apoyado por Brink y Posternak.<sup>42</sup> Sin embargo, la validez y utilidad de este enfoque ha sido puesto en duda.<sup>2</sup> Una limitación de este principio es que la actividad está basada en el estado líquido puro, excluyendo los anestésicos gaseosos. No proporciona ninguna información sobre la clasificación o identificación del sitio anestésico.

### TEORIAS ACUOSAS

Las dos teorías clásicas de anestesia que proponen la fase acuosa como el sitio de acción de los anestésicos son las de Miller y Pauling.<sup>43</sup> Miller postuló que los anestésicos eran capaces de ordenar las moléculas de agua en "icebergs", que estabilizarían la membrana del tejido excitable y así causarían la anestesia. Pauling propuso la formación de clatratos o hidratos de gas como la causa por la cual los anestésicos producen anestesia. La correlación de la formación de hidratos con la potencia anestésica es mucho más débil que la correlación entre la solubilidad en lípidos con la potencia anestésica. Muchos anestésicos no pueden formar hidratos y la estabilidad de los hidratos a 37°C de temperatura corporal no está bien apoyada.

### EXTENSIONES DE LAS TEORIAS HIDROFOBICAS

Mullins<sup>6</sup> propuso una extensión de la regla de anestesia de Meyer-Overton, sugiriendo que la potencia de un anestésico está relacionada no sólo con la concentración en la membrana, sino con el volumen ocupado por el anestésico. Predijo que la anestesia ocurre cuando una fracción crítica de volumen de anestésico existe en la fase de membrana. En soluciones diluidas la fracción de volumen de un anestésico es igual a la fracción de mola las veces de volumen parcial molar. El volumen parcial molar es usualmente aproximado por el volumen molar. Se sugirió que al alcanzar un volumen crítico de anestésico en la membrana, la permeabilidad de los iones estaría deprimida, dando por resultado una pérdida de la excitabilidad. Muchos experimentos han ensayado la teoría hidrofóbica determinando la concentración de anestésico en la fase de membrana<sup>2</sup> y caracterizando la interacción anestésico-membrana. Estos estudios proporcionaron información en el sentido de que las concentraciones en la membrana son del orden de 0.05 molal en concentraciones anestésicas-quirúrgicas. Para ensayar la hipótesis de Mullins la concentración de la membrana fue multiplicada por el volumen molar. Estos cálculos apoyan la hipótesis de que los efectos equi anestésicos ocurren en ocupaciones iguales de volumen en la fase de membrana.<sup>2</sup> Como los volúmenes molares están todos dentro de un factor de 2, la correlación es relativamente menor. Sin embargo, puede haber una dependencia de la estructura molecular en la fase de membrana.<sup>44</sup>

### HIPOTESIS DEL VOLUMEN CRITICO

La teoría de Mullins, sin embargo, puede extenderse para sugerir que un cierto volumen crítico como resultado de la absorción de un anestésico expandiría la membrana. La expansión de las dimensiones de la membrana proporcionaría una base para un mecanismo de acción. Los fenómenos de reversión de la anestesia por presión (ver adelante) proporcionaron apoyo para esta modificación de la hipótesis de Mullins.

La hipótesis del volumen crítico establece que la anestesia ocurre cuando el volumen de una región hidrofóbica es expandido más allá de una cierta cantidad crítica por las moléculas de una sustancia. Esta teoría es similar en concepto con otros mecanismos propuestos. Como Mullins y Smith dicen, la expansión creada por el anestésico puede calcularse fácilmente (especialmente para anestésicos gaseosos) a partir del volumen parcial molar. La concentración crítica del anestésico en la fase hidrofóbica es estimada en forma aproximada en 0.05 molal (en concentraciones utilizadas en la anestesia general) y el aumento correspondiente de volumen es del orden de 0.5%. Utilizando la compresibilidad estimada del sitio de acción, la expansión de 0.5% puede ser antagonizada por una presión de 100 atmósferas, precisamente el orden requerido experimentalmente para revertir los efectos de la anestesia en el organismo intacto.<sup>45</sup>

### EXPANSION DE LA MEMBRANA

La hipótesis del volumen crítico sugiere que la captación de un anestésico en una región hidrofóbica crearía un aumento en el volumen del sitio de acción. Esta hipótesis, por lo tanto predice la expansión de la membrana como el mecanismo físico de acción de los anestésicos. De acuerdo con esta teoría del mecanismo de acción de los anestésicos están las diversas observaciones que demuestran que capas sencillas de lípidos, capas dobles, solventes, aceites y hasta el hule son expandidos por los anestésicos.<sup>2</sup> La hinchazón o expansión de la mayor parte de estas fases es aproximadamente igual al volumen de ocupación del anestésico.

Quizá los datos más convincentes en apoyo de la expansión de la membrana son las mediciones del área de superficie de los eritrocitos.<sup>2, 46-48</sup> La membrana del eritrocito aumenta en superficie de 2 a 3% en concentraciones anestésicas y puede ser hasta de 10 a 12%.<sup>48</sup> La expansión por anestésicos volátiles en concentraciones anestésicas clínicas fue estimada aproximadamente en 0.4%. Recientemente se ha demostrado por mediciones directas que las películas mononucleares de capas de lecitina son expandidas en un 0.5%. Con base en la presión requerida para la reversión de la anestesia, y la compresibilidad necesaria en una fase que semeja la membrana, se estimó que la anestesia general puede estar asociada con una expansión del 0.4%. El volumen de ocupación por la mo-

lícula de anestésico pueden significar sólo el 10% de la expansión total medida.<sup>2</sup> La expansión en exceso ha sido sugerida como resultado del cambio extensivo en la conformación de las proteínas de la membrana. Este exceso en la expansión o dilatación sólo se observa cuando el sistema contiene agua. Se asume que el aumento en el área de superficie es indicativo de una hinchazón uniforme en el volumen de la membrana, es decir, un aumento en todas las direcciones. Se considera que es la primera evidencia directa el estudio de Seeman quien demostró que el etanol expandió el volumen específico del eritrocito y membranas sinaptosómicas. En este mismo estudio las membranas del liposoma fueron expandidas un 0.01% en comparación con la expansión de la membrana que fue de 0.5%. Esto sugiere que el cambio de conformación de las proteínas en la membrana puede ser el efecto principal. Recientemente se informó que el alcohol bencilo produce una gran expansión de los fragmentos de lecitina de dos capas y los n-alkanos producen un engrosamiento de la doble capa como se estimó por los aumentos inducidos por los anestésicos. Trudell ha dudado recientemente de los datos de "expansión" de los eritrocitos y sugiere que las expansiones de volumen de la membrana son del orden del 0.026% para los anestésicos generales y del 0.13% para los anestésicos locales en concentraciones anestésicas eficaces.<sup>49</sup> En este mismo artículo proporciona referencias de estudios teóricos y experimentales que demuestran que una membrana de fosfolípidos de dos capas disminuye su espesor con aumento asociado en el área de superficie. Una disminución en el espesor de la membrana con la interacción con agentes anestésicos ha sido sugerida previamente.

Experimentos recientes han examinado los cambios en la geometría celular y forma de los eritrocitos intactos en presencia de clorpromazina. Los resultados de estos estudios confirman informes anteriores de aumento del área de superficie de la membrana y cambios en la forma de la célula inducidos por clorpromazina.<sup>2</sup> Además, ocurrió una reversión de la deformación de la célula dependiente del tiempo y se predijo un modelo para el cambio de forma correlacionado con el área de expansión. Las proporciones fuera y dentro de la membrana fueron calculadas en relación con la forma fueron comparadas con el aumento del área. Se concluyó de que en el orden de que la célula expuesta a clorpromazina tenga un área-proporción en equilibrio similar a la de la célula testigo, el espesor de la membrana debe disminuir de 100 a 83 Amstroms.

Subsiste la interrogante sobre si la expansión de la membrana proporciona un mecanismo físico de la anestesia. Parecería que un aumento en el área de superficie combinado con una disminución en el espesor de la membrana puede explicar algunos de los hallazgos más recientes, y sin embargo, sigue faltando evidencia concluyente mediante medición directa.

## REVERSION DE LA ANESTESIA POR PRESION

El fenómeno de la reversión o antagonismo de la anestesia por presión ha sido considerado como fuerte evidencia en apoyo de la hipótesis del volumen crítico<sup>50</sup> y la teoría de expansión de la membrana por los anestésicos. Las observaciones originales de la presión que antagonizan los efectos de los anestésicos fueron hechas por Johnson y col.<sup>51, 52</sup> en la luminiscencia bacteriana. Después se informó que la presión hidrostática podía restaurar los movimientos espontáneos de natación de renacuajos anestesiados.<sup>53</sup> Estudios posteriores han demostrado este fenómeno en salamandras, ratones, preparaciones neurales aisladas y modelo de membranas. Se ha demostrado claramente que la presión puede revertir los efectos de la mayor parte de anestésicos en el animal intacto. Originalmente se sugirió que la presión simplemente se opone a la expansión y al aumento de fluidez de la membrana en presencia de un anestésico. Estudios recientes han demostrado que la presión puede restablecer el orden de los componentes de la membrana y hasta puede inducir cambios en la configuración molecular de las cadenas de hidrocarburos de fosfolípidos de la membrana. Sin embargo, hay resultados contradictorios acerca de la capacidad de la presión para revertir la anestesia y en algunos se ha informado que favorece el efecto anestésico. La presión sola puede producir estimulación del SNC, temblores y convulsiones en animales y un fenómeno fisiológico conocido como **Síndrome neurológico de alta presión** en el ser humano. La presión puede inhibir la transmisión sináptica, probablemente al causar una insuficiencia sináptica progresiva y de esa manera alterar los parámetros normales en el tejido nervioso. La disminución en la altura de las curvas dosis-respuesta de anestésicos son diferentes en presencia de alta presión, lo que sugiere que el antagonismo no es directo. La reversión por presión puede ser un fenómeno multineuronal actuando indirectamente como un antagonista funcional que es tan complejo en mecanismo como la anestesia misma.

## FLUIDIFICACION

La fluidez es descrita como una medida de resistencia a la difusión lateral de moléculas en la fase de membrana. La fluidez se ha convertido en una de las propiedades más frecuentemente mencionadas y los estudios recientes de esta propiedad son quizá los más excitantes en el campo de la farmacología molecular de la membrana.

Cuando las cadenas de hidrocarburos de capa doble de la membrana, están dispuestos en una forma geométrica *trans* (o conformación) y son perpendiculares al plano de la doble capa y dispuestas en una formación hexagonal ordenada.<sup>54, 54</sup> Este estado ordenado es denominado la fase de *gel* o *sólida* y existe por debajo de la temperatura crítica (T<sub>c</sub>). En contraste, la fase *fluida* o líquida cristalina es desordenada y las cadenas de hidrocarburos mantienen una orientación perpendicular "promedio" al

plano de la doble capa, pero son desordenadas por la rápida transformación de la conformación (*trans*).<sup>49</sup> La transición de una fase a la otra ocurre a la temperatura crítica ( $T_c$ ) que está relacionada a la composición de la membrana y características de la solución.<sup>54</sup> Está bien establecido que varios agentes pueden alterar los componentes de la membrana y originar cambios de transición afectando así la fluidez de la membrana. Una alteración que produce un cambio de transición de sólido a líquido cristalino puede ser considerada como "aflojamiento" y a menudo se le designa como fluidificación o desordenamiento.<sup>2</sup>

El mecanismo exacto de la expansión de la membrana inducido por anestésicos todavía no ha sido establecido, pero los experimentos que miden los cambios de fluidez de la membrana biológica y de modelos de membrana en presencia de varios medicamentos han proporcionado resultados muy interesantes y han permitido explicar modos de acción de los anestésicos. La alteración de la fluidez puede ser observada como un cambio en la movilidad del medicamento per se o de la movilidad de una sonda marcada por espectrofotometría de fluorescencia, o como cambios de resonancia de SPIN electrónico marcado (*Resonancia de Spin Electrónico*) y resonancia magnética nuclear (RMN).<sup>7</sup>

En general, los anestésicos aumentan la fluidez de la fase de membrana, es decir, inducen una transición de gel (sólido) a líquido cristalino, en la misma forma que aumentan la temperatura. El cambio en la temperatura de transición inducido por anestésicos sugiere que el depósito de lípidos ha aumentado. Este fenómeno de fusión depende de la concentración; el grado de respuesta está relacionado linealmente a la dosis. Se ha demostrado que el halotano<sup>55</sup> produce una respuesta bifásica tanto en el modelo de membrana como en la membrana sinaptosómica del cerebro. Los autores atribuyeron sus hallazgos al llenado de los espacios de la membrana por el halotano que, además se relacionan con el modelo de volumen crítico. Ha existido cierto grado de desacuerdo en cuanto a si los cambios de fluidez ocurren en concentraciones anestésicas clínicas. Boggs, Young y Hsia<sup>56</sup> han informado que no hay cambio detectable en el ordenamiento de la capa doble a dosis clínicas y la controversia parece resolverse en base a definir la "concentración anestésica clínica". Kaufman<sup>7</sup> ha señalado esta discrepancia y parecería que efectivamente la fluidificación ocurre con concentraciones clínicas de anestésicos.

Utilizando sondas *Spin* que localizan la marca del spin en diferentes niveles en la fase de membrana, se encontró que la fluidificación parece estar generalizada, más que localizada en una región;<sup>57</sup> sin embargo, también se ha informado de variaciones en el grado de alteración.<sup>58, 59</sup>

La capacidad de varias moléculas de fluidificar membranas parece correlacionarse con su actividad bio-

lógica. Lawrence y Gill<sup>60</sup> han demostrado que los cannabinoles biológicamente activos, los anestésicos esteroides y los alcoholes fueron capaces de fluidificar dobles capas de lecitina-colesterol y los compuestos inactivos causaron mucho menos desordenamiento. La eficacia de los compuestos activos se correlacionó muy bien con la ocupación del volumen molar, lo que apoya la teoría del volumen crítico. Los anestésicos esteroides proporcionaron información adicional en cuanto a que la estructura u orientación molecular fue también importante en su capacidad para fluidificar las membranas. La diferencia comparativa en actividad u orientación de los isómeros esteroides fue sugerida como resultado de la formación de una ligadura (puente) de hidrógeno. Los efectos fluidificantes de los barbitúricos, anestésicos locales y alcoholes también han sido demostrados. La localización o selectividad de la fluidificación inducida por anestésicos ha sido sugerida como una relación con la capa lipídica anular que rodea el canal de sodio, dando como resultado una alteración de los canales de sodio. Sin embargo, también se ha dicho que la correlación entre fluidez y permeabilidad iónica es deficiente para explicar del todo el mecanismo de los anestésicos. Recientemente, Trudell ha postulado que los anestésicos pueden alterar o eliminar las separaciones de la fase lateral en la capa doble, es decir, los límites entre las fases de gel y líquida necesaria para la función de las proteínas en la membrana fluida.<sup>61</sup>

La importancia de la fluidez para fundir vesículas en las terminales presinápticas, liberación del transmisor y respuesta postsináptica a la estimulación química, todas están implicadas<sup>7</sup>; así, la alteración de la fluidez puede afectar algo o todo estos procesos de la transmisión sináptica. Parece que la sensibilidad de varias membranas puede diferir en su respuesta a los cambios en la fluidez inducidos por anestésicos, lo que puede explicar la variación en las respuestas biológicas observadas para diferentes anestésicos. La fluidez depende la composición de la membrana; diferentes membranas muestran grados diferentes de fluidez y selectividad de la acción de los anestésicos también depende de la composición de la membrana<sup>40</sup>. Los cambios en la fluidez pueden explicar el fenómeno de la expansión del área de la membrana y así proporcionar un mecanismo para explicar la acción de los anestésicos. Consistentemente con una teoría de que la fluidificación puede proporcionar un mecanismo y la observación de que la presión puede revertir los cambios de transición inducidos por anestésicos en capas dobles de membranas son una evidencia muy fuerte, sin embargo, todavía no son hallazgos definitivos para confirmar el mecanismo de acción de la anestesia general.

#### INTERACCIONES ANESTESICO-PROTEINA

Como muchas funciones de las células vivas son dependientes de las proteínas de la membrana<sup>58</sup> es esencial

que sean estudiados los efectos de los anestésicos en las proteínas de la membrana. La mayor parte de estos estudios han utilizado proteínas puras o polipéptidos, ya que el aislamiento de las proteínas de la membrana es difícil y requiere solventes, algunos de los cuales pueden ser clasificados como anestésicos. Las proteínas susceptibles a la interacción con anestésicos incluyen enzimas, receptores, proteínas de transporte de membrana y proteínas estructurales (microfilamentos y microtúbulos). Una descripción limitada sobre este tópico se presenta aquí, ya que existen revisiones excelentes por otros investigadores<sup>2, 7</sup>.

Los anestésicos son capaces de unirse a proteínas que contienen sitios hidrofóbicos<sup>2</sup>. Los cambios de conformación que ocurren como resultado de esta interacción son relativamente pequeños. Técnicas como difracción de rayos X y dispersión rotatoria óptica han sido usadas frecuentemente para estudiar los cambios de conformación. Eyring y col.<sup>62</sup> han propuesto una teoría de anestesia basada en los cambios de conformación de las proteínas (CCP), o teoría del desenvolvimiento. Estas teorías han resultado originalmente de los estudios de los efectos de los anestésicos en quimioluminiscencia de luciferas a una enzima soluble en agua extraída de la cola de la luciérnaga. Esta teoría también podría relacionarse a las lipoproteínas involucradas en la liberación del transmisor y conductancia de la membrana postsináptica. Trudell ha propuesto recientemente una teoría de anestesia que sugiere que los anestésicos alteran las separaciones en la fase lateral de lípidos en la membrana, que inducen inhibición de los cambios de conformación de las proteínas asociadas con la función neural<sup>61</sup>. Esta teoría es compatible con la teoría del desenvolvimiento de Lee.

Los efectos de los anestésicos en los sistemas de enzimas han sido revisados por Kaufman<sup>7</sup>; esta acción usualmente no se considera como una acción primaria para la anestesia. El papel que desempeñan los microtúbulos y microfilamentos como proteínas estructurales de la membrana no están completamente aclarados. Generalmente las concentraciones eficaces de anestésicos en estas estructuras son relativamente altas, lo que sugiere que los efectos son secundarios a la anestesia.

## PAPEL DE LAS ENCEFALINAS Y ENDORFINAS EN ANESTESIA

Finck y col.<sup>63</sup> señalaron recientemente que la naloxona es capaz de antagonizar parcialmente la acción de los anestésicos inhalatorios en la rata, y sugieren que los anestésicos podrían actuar a través de la liberación de endorfinas o encefalinas. Sin embargo, otros investigadores no han encontrado los mismos resultados, ya que sólo han observado un pequeño o ningún aumento en los requerimientos anestésicos (tomando como parámetros el umbral a los estímulos dolorosos o la capacidad para abolir el reflejo de enderezamiento) empleando dosis altas de naloxona. El consenso actual acepta que si bien los anestésicos pueden producir analgesia a través de la liberación de opiáceos endógenos, no producen la anestesia por este mecanismo.<sup>64-66</sup> Uno de los problemas que se presentan con estos parámetros para medir la anestesia y la analgesia es que la anestesia se evalúa como una respuesta de naturaleza *cuantal* (todo o nada) mientras que la analgesia se mide usualmente como una respuesta gradual. Nosotros hemos encontrado que la naloxona es capaz de antagonizar los efectos del enflurano (inhibición de las contracciones) en la preparación de íleo aislado de cobayo. Esto sugiere que el anestésico produce liberación de opiáceos endógenos los cuales son antagonizados por la naloxona. Sin embargo, con halotano no observamos este antagonismo<sup>64, 65</sup>.

En conclusión, los anestésicos generales tienen una gran variedad de efectos a nivel presináptico, postsináptico y muy importantemente sobre diversos componentes de la membrana celular, que han sido objeto de una gran cantidad de estudios tendientes a identificar el mecanismo de acción. Las principales teorías del mecanismo de acción de los anestésicos muestran de manera constante los sitios hidrofóbicos de la membrana celular como la región más frecuentemente involucrada en el mecanismo físico de la anestesia. Sin embargo, los anestésicos pueden mostrar diversos grados de selectividad sobre las estructuras celulares y producir cambios biofísicos o bioquímicos en las membranas que originarían la anestesia. La expansión de la membrana, la fluidificación y los cambios de conformación de las proteínas que ocurren con los anestésicos pueden ser el mecanismo a través del cual se manifiesta el fenómeno fisiológico de la anestesia.

## REFERENCIAS

1. ROTH S, SEEMAN P: *All lipid soluble anesthetic protect red cell*. Nature New Biol. 1971;231:284-285
2. SEEMAN P: *The membrane actions of anesthetics and tranquilizers*. Pharmacol Rev, 1972;24:583-655
3. MILLER KW, PATON WDM, SMITH EB, SMITH RA. *Physicochemical approaches to the mode of action of general anesthetics*. Anesthesiology. 1972;36:339-51
4. ROTH SH. *Physical mechanism of anesthesia*. Ann Rev Pharmacol Toxicol, 1979;19:159-178
5. KOBLIN DD, EGER EI. *Theories of narcosis*. N Engl J Med, 1979; 301:1222-1224
6. MULLINS LJ. *Some physical mechanism in narcosis* Chem Rev, 1954;54:289-323
7. KAUFMAN RD, *Biophysical mechanism of anesthetic action: Historical perspective and review of current concepts*. Anesthesiology, 1977;46:49-62
8. WALL PD. *The mechanisms of general anesthesia*. Anesthesiology, 1967;28:46-52



9. DIAMOND BI, HAVDALA HS, SABELLI HC: *Differential membrane effects of general and local anesthetics*. Anesthesiology, 1975;43: 651-660
10. STRUCHARTZ G: *Molecular mechanisms of nerve block by local anesthetics*. Anesthesiology, 1976;45:421-441
11. MILLAR RA: *Anesthetic action*. Br J Anaesth, 1975;47:335
12. WINTERS WD, FERRAR-ALLADO T, GUZMAN-FLORES C ET AL: *The cataleptic state induced by ketamine: A review of the neuropharmacology of anesthesia*. Neuropharmacology, 1972;11:303-315
13. SHIMOJI K, MATZUKI M, SHIMIZU H ET AL: *Dishabituation of mesencephalic reticular neurons by anesthetics*. Anesthesiology, 1977; 47: 349-352.
14. CLARK DL, ROSNER BS: *Neurophysiologic effects of general anesthetics I. The electroencephalogram and sensory evoked response in man*. Anesthesiology. 1973; 47:564-582.
15. LEE AG: *Interactions between anesthetics and lipid mixtures. Normal alcohols*. Biochemistry. 1976;15:2448-2454
16. RICHARDS CD, SMAJE JC: *Anaesthetics depress the sensitivity of cortical neurones to L-glutamate* Br J Pharmacol, 1976;58:347-357
17. LARRABEE MG, POSTERNAK JM: *Selective action of anesthetics on synapses and axons in mammalian sympathetic ganglia*. J Neurophysiol, 1952;15:91-114
18. STAIMAN A, SEEMAN P: *Nerve fibre diameter determines the nerve blocking concentrations of anesthetics, alcohols, anticonvulsants, barbiturates and narcotics*. Can J Physiol. Pharmacol, 1974;52: 535-55
19. STAIMAN A, SEEMAN P: *Conduction blocking concentrations of anesthetics increase with nerve axon diameter: Studies with alcohol, lidocaine and tetrodotoxin on single myelinated fibers*. J Pharmacol. Exp. ther. 1977;201:340-349
20. CARPENTER FG: *Anesthetic action of inert and unreactive gases on intact animals and isolated tissues*. Am J Physiol. 1954;178:505-509
21. ROTH SH, SMITH RA, PATON WDM: *Pressure antagonism of anesthetic induced conduction failure in peripheral nerve*. Proc Can Fed Biol Soc. 1973;16:28
22. ROTH SH, SMITH RA, PATON WDM: *Pressure antagonism of anesthetic induced conduction failure in frog peripheral nerve*. Br J Anaesth. 1976;48:621-628
23. SOMJEN GG: *Effects of anesthetics on spinal cord of mammals*. Anesthesiology, 1967;28:135-43
24. CASSER HS, ERLANGER J: *The role of fibre size in the establishment of nerve block by pressure or cocaine* Am J Physiol, 1929; 88:551-591
25. SHRIVASTAV BB, MARAHASHI T, KITZ RJ ET AL: *Mode of action of trichloroethylene on squid axon membranes*. J Pharmacol Exp ther. 1976;199:179-188
26. HILLE B: *The pH-dependent rate of action of local anesthetics of the node of Ranvier*. J Gen Physiol 1977; 69:475-496.
27. HILLE B: *Local anesthetics: Hydrophilic and hydrophobic pathways for the drug-receptor reaction*. J Gen Physiol 1977; 69:497-515.
28. KENNEDY R D, GALINDO A D: *Comparative site of action of various anesthetic agents at the mammalian myoneural junction*. Br J Anaesth 1975; 47:533-540.
29. WEAKLY J N: *Effect of barbiturates on "quantal" synaptic transmission in spinal motoneurons*. J Physiol 1969; 204:63-77.
30. NICHOLL R A: *The effects of anesthetics on synaptic excitation and inhibition in the olfactory bulb*. J Physiol 1972; 233:803-814.
31. GALINDO A: *Procaine pentobarbital and halothane: Effects on the mammalian myoneural junction*. J Pharmacol Exp Ther 1971; 177: 360-368.
32. SATO M, AUSTIN G M, YAI H: *Increase in permeability of the post-synaptic membrane to potassium produced by "nembutal"* Nature 1967; 215:1506-1508.
33. POLLARDS B J, MILLAR R A: *Potentiating and depressant effects of inhalation anesthetics on the rat prenic nerve diaphragm preparation*. Br J Anaesth 1973; 45:404-415.
34. TRITTON T R, MURPHREE S A, SARTORELLI A C: *Characterization of drug membrane interactions using liposome system*. Biochem Pharmacol 1977; 26:2319-2323.
35. SINGER S J, MICOLSON G L: *The fluid mosaic model of the structure of cell membranes*. Science 1972; 175:720-731.
36. ROTHMAN J E, LENARD J: *Membrane asymetry*. Science 1977; 195: 743-753.
37. FAHEY P F, KOPPEL D E, BARAK L ET AL: *Lateral diffusion in planer lipid bilayers*. Science 1977; 195:305-36.
38. GENNIS R B, JONES A: *Protein lipid interactions*. Ann Rev Biophys Bioeng 1977; 6:195-238.
39. METCALFE J C, HOULT J R S, COLLEY C M: *The molecular implications of the unitary hypothesis of anesthetic action. In molecular mechanisms in general anesthesia*. Edinburgh: Churchill-Livingstone 1974; pp. 145-162.
40. MILLER K W, PANG K Y: *General anesthetics can selectively perturb lipid bilayer membranes*. Nature 1976; 263:253-255.
41. FERGUSON J: *The use of chemical potentials as indices of toxicity*. Proc R Soc London Ser B 1939; 127:387-404.
42. BRINK F, POSTERNAK J M: *Thermodynamic analysis of the relative effectiveness of narcotics*. J Cell Comp Physiol 1948; 32:211-233.
43. PAULING L: *A molecular theory of general anesthesia*. Science 1961; 134:15-21.
44. KIER L B, HALL L H: *The nature of structure-activity relationships and their relation to molecular connectivity*. Eur J Med Chem 1977; 12:307-312.
45. LEVER M J, MILLER K W, PATON W D M ET AL: *Pressure reversal of anesthesia*. Nature 1971; 231:368-371.
46. SEEMAN P, ROTH S: *General anesthetics expand cell membranes at surgical concentrations*. Biochim Biophys Acta 1972; 255:171-177.
47. ROTH S, SEEMAN P: *Anesthetics expand erythrocyte membranes without causing loss of potassium*. Biochim Biophys Acta 1972; 255:190-198.
48. ROTH S, JAY A W L, BECK J S: *Expansion of intact red blood cell membrane by butanol*. Fed Proc 1974; 33:1591.
49. TRUDELL J R: *The membrane volume occupied by anesthetic molecules: A reinterpretation of erythrocyte expansion data*. Biochim Biophys Acta 1977; 470:509-510.
50. MILLER K W, PATON W D M, SMITH R A, SMITH E B: *The pressure reversal of anesthesia and the critical volume by hypothesis*. Mo. Pharmacol 1973; 9:131-143.
51. JOHNSON F H, BROWN D, MARSLAND D: *A basic mechanism in the biological effects of temperature, pressure and narcotics*. Science 1942; 95:200-203.
52. JOHNSON F H, BROWN D, MARSLAND D A: *Pressure reversal of the action of certain narcotics*. J Cell Physiol 1942; 20:269-276.
53. JOHNSON F H, FLAGLER E A: *Hydrostatic pressure reversal of narcosis in tadpoles*. Science 1950; 112:91-92.
54. OVERATH P, THILO L, TRAUBLE H: *Lipid phase transitions and membrane function*. Trends Biochem 1976; 1:186-189.
55. ROSENBERG P H, EIBL H, STIER A: *Biphasic effects of halothane on phospholipid and synaptic plasma membranes: A spin label study*. Mol Pharmacol 1975; 11:879-882.
56. BOGGS J L, YOONG T, HSIA J C: *Site and mechanism of anesthetic action. I. Effect of anesthetics and pressure on fluidity of spin-labeled lipid vesicles*. Mol Pharmacol 1976. 12:127-135.
57. TRUDELL J R, HUBBELL W L, COHEN E N: *The effect of two inhalation anesthetics on the order of spin labeled phospholipid vesicles*. Biochim Biophys Acta 1973; 291:321-327.
58. ROTH S H, SPERO L: *Effects of a series of alcohols on the binding of a fluorescent dye to erythrocyte membranes*. Can J Physiol Pharmacol 1976; 54:35-41.
59. TSONG T Y, GREENBERG M, KANEHISA M I: *Anesthetic action on membrane lipids*. Biochemistry 1977. 16:3115-3121.

60. LAWRENCE D K, GILL E W: *Structurally specific effects of some steroid anesthetics on spin-labeled liposomes*. Mol Pharmacol 1975; 11:280-286.
61. TRUDELL J R: *A unitary theory of anesthesia based on lateral phase separations in nerve membranes*. Anesthesiology 1977; 46:6-10.
62. EYRING H, WOODBURY J W D, ARIGO J S: *A molecular mechanism of general anesthesia*. Anesthesiology 1973; 38:415-424.
63. FINCK A D, NGAI S H, BERKOWITZ B A: *Antagonism of general anesthesia by naloxone in the rat*. Anesthesiology 1977; 46:241-245.
64. VILLAREJO D M: *Receptores opiáceos y péptidos opioides*. Primera parte. Rev Mex Anest 1982; 5:97-106.
65. VILLAREJO D M: *Receptores opiáceos y péptidos opioides*. Segunda parte. Rev Mex Anest 1982; 5:165-171.
66. VILLAREJO D M: *Endorfinas, receptores opiáceos y anestesia*. Rev Mex Anest 1983; 6:49-50.