

Los aceites esenciales herbales como anestésicos en peces cebra (*Danio rerio*)

Román Espinosa Cervantes¹ y Adolfo Rosado García²

Resumen. En los últimos años la anestesiología en peces se ha venido estudiando como un modelo animal alternativo. Actualmente, en el mercado existen una gran diversidad de productos químicos y sintéticos que se usan en la anestesiología animal como el metanosulfonato de tricaina, sin embargo, algunos de ellos presentan efectos secundarios como alteraciones bioquímicas, problemas cardiacos y respiratorios. Recientemente los investigadores se han interesado por el uso de los productos herbales (aceites esenciales) como anestésicos en la acuicultura, por lo que se recopilaron algunos estudios disponibles en la literatura internacional sobre el uso de aceites esenciales y sustancias activas para la sedación y anestesia en peces cebra. Como resultado de este análisis, se detectó que los aceites esenciales usados en la anestesiología acuícola son ecológicos, rentables, además no son aversivos, no causan efectos secundarios y son promotores de la salud (antioxidante, antimicrobiano y antiparasitarios). No obstante, también encontramos que aún hay falta de información acerca de algunos mecanismos de acción y el efecto en la salud de estos anestésicos herbales. En este artículo se presentan los principales aceites esenciales utilizados como sedantes y anestésicos en peces cebra durante los procedimientos de manejo en confinamiento.

Palabras clave: Peces cebra, Anestésicos, Aceites esenciales, *Danio rerio*, Mecanismo de acción.

Abstract. In recent years, anesthesiology in fish has been studied as an alternative animal model. Currently on the market there are a wide variety of chemical and synthetic products that are used in animal anesthesiology such as tricaine methanesulfonate. However, some of them have side effects such as biochemical alterations, heart, and respiratory problems. Researchers have recently become interested in the use of herbal products (essential oils) as anesthetics in aquaculture. The-

¹ Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Departamento de Producción Agrícola y Animal, e-mail: espinosa@correo.xoc.uam.mx

² Investigador Nacional Nivel 3.

refore, some studies available in the international literature on the use of essential oils and active substances for sedation and anesthesia in zebrafish were compiled. The results of this analysis are that the essential oils used in aquaculture anesthesiology are ecological, profitable, non-aversive, do not cause side effects and are health promoters (antioxidant, antimicrobial and antiparasitic). However, we also found that there is still a lack of information about some mechanisms of action and the effect on health of these herbal anesthetics. This article presents the main essential oils used as sedatives and anesthetics in zebrafish during confinement handling procedures.

Keywords: Zebrafish, Anesthetics, Essential oils, *Danio rerio*, Mechanism of action.

INTRODUCCIÓN

La lucha característica de los peces durante los procedimientos de manejo, como la biometría, colección de sangre, desove artificial, biopsias, cirugía y el transporte, afectan su comportamiento fisiológico (Aydın y Barbas, 2020). Actualmente, los anestésicos son utilizados para inmovilizar a los peces bajo diferentes formas; desde una sedación ligera para reducir el estrés durante el manejo, en procedimientos no invasivos, hasta la anestesia general para evitar infligir dolor durante los procedimientos quirúrgicos (Priborsky y Velisek, 2018; Vargas, 2018).

Los principales anestésicos utilizados en los peces son sintéticos y naturales (aceites esenciales y metabolitos secundarios de plantas) (Aydın y Barbas, 2020). Generalmente los anestésicos producen una neurodepresión generalizada en el sistema nervioso central (SNC), producida por una acción sobre los axones nerviosos para favorecer la neurotransmisión inhibitoria y reducir la neurotransmisión excitadora. Además, el estado anestésico general comprende múltiples componentes (amnesia, inconsciencia, analgesia e inmovilidad), cada uno de los cuales está mediado por diferentes receptores y vías neuronales (Son, 2010; Andropoulos, 2018). Sin embargo, algunos anestésicos sintéticos utilizados inducen efectos secundarios significativos en los peces: alteraciones bioquímicas, endocrinas, depresión de la función cardiovascular, respiratoria y efectos inmunosupresores (Silva *et al.*, 2013). En este contexto, los aceites esenciales (AE) y sus componentes ofrecen una alternativa como sedante, anestésico, antioxidante y antimicrobiano para los animales acuáticos, y su uso se ha extendido en los últimos años. Además, la forma nano encapsulada de los AE puede potenciar sus efectos y, generalmente, los AE presentan menos efectos secundarios que los compuestos sintéticos en los peces (Souza *et al.*, 2019).

Un modelo animal usado para estos estudios es el pez cebra (*Danio rerio*), de la familia de los ciprínidos, que se ha convertido en una especie muy popular para modelar estudios en investigación biomédica, biología del desarrollo, toxicología y técnicas transgénicas. Especialmente debido a sus características genéticas, de desarrollo y su similitud con los mamíferos. Por consecuencia, es un animal ideal para evaluar nuevos compuestos que pueden representar anestésicos alternativos para los procedimientos en acuicultura (Grush *et al.*, 2004; Félix *et al.*, 2019). Este artículo presenta los principales aceites esenciales utilizados como sedantes y anestésicos en peces cebra durante los procedimientos de manejo en confinamiento.

REVISIÓN DE LITERATURA

Para desarrollar el presente estudio, se recopilaron artículos científicos disponibles en las bases de datos: Medline, ScienceDirect, Scopus, el buscador Google académico y la biblioteca digital de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco (BidiUAM). La información seleccionada es de reciente publicación, y preferentemente con factor de impacto. Las palabras clave utilizadas en la búsqueda de información fueron: pez cebra, aceites esenciales, anestesia y mecanismo de acción. Cada uno de los conceptos se combinó con operadores booleanos como “and”, “or” o “not” para la recuperación de la información. La revisión de literatura está basada en artículos de revisión y artículos originales relacionados con el uso de los aceites esenciales, los peces cebra y anestesia.

Mecanismo de acción de la anestesia

Es un estado transitorio, reversible de depresión sobre regiones específicas del sistema nervioso central (SNC), provocando los diferentes componentes de la anestesia general (inconsciencia, inmovilidad y amnesia); en este estado hay analgesia, amnesia, inhibición de los reflejos sensoriales y autónomos, relajación del músculo estriado y pérdida de la conciencia (Tabla 1), (Small, 2003; Bauquier *et al.*, 2011; Diao *et al.*, 2014). La anestesia general produce depresión generalizada en el SNC al aumentar la inhibición de la neurotransmisión y reducir la neurotransmisión excitatoria. Los neurotransmisores excitadores, como el glutamato y la acetilcolina, causan despolarización, mientras que los neurotransmisores inhibitorios como GABA y glicina reducen la actividad postsináptica. Estos neurotransmisores son mensajeros químicos que transmiten señales a través de

una sinapsis química. Los neurotransmisores libres se unen con receptores de canales iónicos para controlar el flujo de iones. El control de la actividad eléctrica celular por los canales iónicos está estrechamente relacionado con la acción fisiológica de los anestésicos y los diversos patrones de respuesta conductual a ellos. Entre los canales iónicos, los receptores como el ácido γ -Aminobutirico tipo A ($GABA_A$), glicina, 5-hidroxitriptamina tipo 3a, acetilcolina nicotínica y N-metil-D-aspartato (NMDA) muestran sensibilidad a los anestésicos generales, incluidos los barbitúricos, el propofol, las benzodiazepinas y los agentes de inhalación halogenados (Preckel *et al.*, 2006; Diao *et al.*, 2014).

Tabla 1. Etapas anestésicas de los peces

Etapa	Nivel de conciencia	
Etapa 0	Normal	Equilibrio, respiración normal del opérculo y respuesta a los estímulos visuales y táctiles.
Etapa I	Sedación	Equilibrio de normal a reducido, movimiento del opérculo reducido, pérdida de la reacción a estímulos visuales y táctiles.
Etapa II	Anestesia ligera	Pérdida del equilibrio, natación lateral irregular, movimiento del opérculo de reducido a lento, pérdida de reacción a estímulos visuales y respuesta lenta a débil en los estímulos táctiles.
Etapa III	Anestesia profunda	Pérdida del equilibrio, movimiento lento del opérculo, descoordinación al nadar, disminución de la reacción a estímulos visuales y táctiles.
Etapa IV	Anestesia quirúrgica	Reducción del latido opercular, ausencia de movimiento natatorio.
Etapa V	Colapso medular	Ausencia de latido opercular, insuficiencia respiratoria y muerte.

(Small, 2003; Bauquier *et al.*, 2011; Pedrazzani y Ostrensky, 2016).

Algunos de los anestésicos volátiles también actúan sobre los canales de potasio y los canales dependientes de voltaje (sodio, calcio). Típicamente, los anestésicos generales potencian la activación de los canales postsinápticos inhibidores o inhiben la activación de los canales sinápticos excitadores (Son, 2010).

Los principales puntos a considerar en la anestesia general en los peces son: obtener un efecto satisfactorio, inducción rápida, tiempo de recuperación y los márgenes de seguridad, los cuales son propiedades importantes. Los principales anestésicos sintéticos usados en la acuicultura son: metanosulfonato de tricaína (MS-222), quinaldina, metomidato (Tabla 3), 2-fenoxietanol, mentol y benzocaína. Sin embargo, algunos de estos anestésicos causan efectos secundarios no deseados, como pérdida de moco, irritación de las branquias y daño corneal (Bernardes *et al.*, 2013).

Otros estudios también se han enfocado en analizar las variaciones en la respuesta de los anestésicos entre especies, dichas variaciones pueden ser resultado de las diferencias farmacocinéticas, descritas como lo que el cuerpo le hace al fármaco, y por diferencias farmacodinámicas, descritas como lo que el fármaco le hace al cuerpo. Tanto las diferencias farmacocinéticas como farmacodinámicas en los peces pueden estar influenciadas por factores biológicos y ambientales (Tabla 2), (Ross y Ross, 2009; Zahl *et al.*, 2011).

Tabla 2. Factores que afectan la eficacia de los anestésicos en los peces

Grupo	Factor	Mecanismos probables
Biológico	Especie	▪Diferencias corporales y hábitos
	Cepa o variante genética	▪Proporción del área branquial y peso corporal
	Tamaño y / o peso	▪Variabilidad fisiológica
	Sexo y madurez sexual	▪Diferencias en enzimas
	Contenido de lípidos	▪Cambio en la tasa metabólica
	Condición corporal	▪Contenido de lípidos corporales (gónadas)
	Estado de la enfermedad	▪Uso de drogas lipofílicas
	Estrés	▪Peces grasos o especímenes viejos ▪Animales agotados, post-desove
Ambientales	Temperatura	▪Q10 como en todos los ectotermos (poiquilotermos) ▪Efectos del pKa y ionización de moléculas
	pH	▪Efectos amortiguadores ▪Antagonismo de calcio
	Salinidad	▪Contenido mineral del agua ▪Nivel de oxígeno

Ross y Ross, 2009.

En los últimos años, se han incrementado los estudios que investigan la actividad potencial de los productos a base de géneros herbales (aceites esenciales), para sustituir a los anestésicos sintéticos para la sedación y la anestesia en los peces (Aydın y Barbas, 2020). Uno de los principales argumentos es que los peces poseen un sistema neuronal básico, esencial para la nocicepción, es decir, percepción de estímulos de dolor. Por lo tanto, para asegurar el bienestar de los peces sometidos a procedimientos donde se infringe dolor, es necesario que los agentes anestésicos cuenten con la capacidad de bloquear las vías nociceptivas (Zahl *et al.*, 2011).

Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) son sustancias orgánicas naturales, sintetizadas por plantas aromáticas durante el metabolismo secundario. Son lípidos (líquidos raramente coloreados), solubles en lípidos y disolventes orgánicos (insolubles en agua). Los AE generalmente contienen más de 20 componentes diferentes de bajo peso molecular en concentraciones variables. Su composición química y concentración puede variar según la parte de la planta, la etapa fenológica, la temporada del año, las condiciones de producción (suelo y clima). Además, los métodos de procesamiento y extracción también pueden afectar su composición (Sutili *et al.*, 2017; Tavares-Dias, 2018).

Los compuestos principales de los AE son los terpenoides que son hidrocarburos naturales producidos por una amplia variedad de plantas. Los terpenos son agrupados en diferentes tipos según su estructura y función; se clasifican con base en cinco unidades de carbono (isopreno). Los principales terpenos son monoterpenos (C10) y sesquiterpenos (C15) y fenilpropanoides que pueden contener diferentes grupos funcionales (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos). Aunque los hemiterpenos (C5), los diterpenos (C20), los triterpenos (C30) y los tetraterpenos (C40) también son importantes y representan alrededor de 90% de los aceites esenciales (Chávez-González *et al.*, 2016).

Hoy día existe una creciente demanda por el uso de anestésicos de bajo costo, seguros y sin efectos secundarios, capaces de reducir el estrés en la acuicultura durante los procedimientos de captura y manejo. Actualmente, es conocido que los anestésicos sintéticos (AS) causan efectos secundarios en los individuos. Debido a estos efectos adversos, los investigadores han propuesto el uso de productos naturales, como aceites esenciales (AE) y extractos de plantas como alternativa sedante y anestésica en animales acuáticos para reemplazar a los AS (Gottlieb *et al.*, 2019).

En los últimos años, se han probado nuevos medicamentos anestésicos para reducir los efectos secundarios que provocan los AS. Los AE y sus componentes son principalmente sedantes y medicamentos anestésicos que se han usado en peces como una alternativa natural (Tabla 3). Estos incluyen a *Aloysia gratissima*, *Aloysia triphylla*, *Lippia alba*, *Menta arvensis* (mentol) y *Condalia buxifolia metanólica* (Martins *et al.*, 2018; Martins *et al.*, 2019).

Además, los AE tienen efectos positivos demostrados en los procedimientos de acuicultura como alternativas a los AS, ayudando a reducir respuestas al estrés y el daño físico. También, los AE logran una disminución en el consumo de oxígeno, lo que probablemente se asocia con una reducción de la producción aeróbica del ATP (Zago *et al.*, 2018). Otros autores afirman que los AE disminuyen las concentraciones de cortisol, así como la excreción de amoniaco, además mejora el estado oxidativo y la regulación iónica (Junior *et al.*, 2018).

Algunas de las principales características que tienen los AE para su funcionamiento como sedante y anestésico son: propiedades lipofílicas y liposolubilidad, contribuyendo a una rápida dispersión a través de membranas biológicas, incluida la barrera hematoencefálica en el sistema nervioso central (SNC), modulando la función cerebral. Se sabe que algunos AE ejercen sus efectos anestésicos regulando el complejo receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA), el principal neurotransmisor inhibitorio en el SNC. Otros AE actúan en el sitio de las benzodiazepinas del receptor GABA_A, pero otros no (Heldwein *et al.*, 2012). Además, el AE de *Cymbopogon nardus* induce anestesia profunda, promoviendo una depresión en la contracción muscular, potenciada con la pérdida del tono muscular y depresión transitoria cardio respiratorio (Souza *et al.*, 2019).

Tabla 3. Efecto de los diferentes anestésicos en los peces

Anestésicos	Mecanismos de acción	Efecto
Tricaina o MS-222	Es un relajante muscular que bloquea los canales de Na ⁺ y, en menor grado, los de K ⁺ en las membranas nerviosas.	Dosis de Tricaina 100-200 mg/L, inmersión. Bloquean la mayoría de las neuronas, glándulas y células musculares (tanto estriadas, cardíacas y lisas). Además, pueden causar nocicepción, parálisis y depresión respiratoria. Causan aversión, lesiones epidérmicas y corneales, hipoxemia, disminución de la frecuencia cardíaca y muerte (Matthews y Zoltán, 2012; Attili y Hughes, 2014).
Metomidato	Activa los receptores GABA _A	Dosis 2-4 mg/L, inmersión. Es un sedante-hipnótico no barbitúrico que actúa sobre el SNC. No bloquea la nocicepción. Causa depresión respiratoria, cardíaca e inhibe la producción de cortisol y glucosa (Collymore <i>et al.</i> , 2014).
Isoeugenol (<i>Syzygium aromaticum</i> o <i>Eugenia aromatica</i>)	Inhibe los canales de Na ⁺ , K ⁺ y Ca ₂ . Potencia los receptores GABA _A , e inhibe los receptores NMDA.	Dosis 55mg/L, inmersión. Produce analgesia y sedación. Los efectos adversos en los peces incluyen: aversión, disminuye la ventilación, frecuencia cardíaca, presión arterial y tono vascular (Martins <i>et al.</i> , 2016).
Enfriamiento gradual	Aún no es claro. Sin embargo, se propone que está relacionado con la actividad del GABA y la modulación de la señal de calcio en el SNC, que permite aumentar un posible efecto GABAérgico.	El enfriamiento gradual provoca un plano quirúrgico de anestesia. Los peces pierden el equilibrio a los 11.9 °C (10.9-12.5°C). Los movimientos operculares se desaceleran y la respuesta a estímulos de la aleta caudal, se pierde a los 10.3°C (Wallace <i>et al.</i> , 2018).

<i>Aloysia triphylla</i>	Aún no es claro el mecanismo de acción de <i>A. triphylla</i> en peces (Zepfenfeld, <i>et al.</i> , 2104).	Dosis 200 $\mu\text{l L}^{-1}$ Ansiolítico, induce estrés porque no evita el aumento de cortisol, no induce aversión. Reduce el consumo de oxígeno y la actividad exploratoria. No afecta los niveles en plasma de glucosa, Na^+ y CL^- (Junior <i>et al.</i> , 2018).
<i>Lippia alba</i>	Existe la participación del sistema GABAérgico en el efecto anestésico.	Dosis 300 $\mu\text{l L}^{-1}$ Ansiolítico, atenúa el estrés evitando el aumento de cortisol después del estrés agudo, no induce aversión (Junior <i>et al.</i> , 2018).
<i>Lavendula angustifolia</i>	El mecanismo de acción de la lavanda es post-sináptico y no es similar a la atropina, y el efecto espasmolítico probablemente esté mediado por AMPc, no a través de GMPc.	Dosis 1.8 cc L^{-1} . Induce anestesia en peces cíclidos, similar al extracto de clavo sin efectos secundario y con una buena recuperación (Lis-Balchin y Hart, 1999; Abbas Raisi <i>et al.</i> , 2019).
<i>Menta arvensis</i>	El mentol puede desempeñar un papel en la inducción de la anestesia quirúrgica en peces, mediante la activación de los receptores GABA_A y al movimiento rápido a través de los nociceptores de frío.	Los sitios de acción del mentol, localmente 10 mM de dimentol en un lado de una branquia (50 μl), cavidad oral (50 μl), y a un costado de la superficie del cuerpo (100 μl) (Kasai <i>et al.</i> , 2014). Otros autores reportan concentraciones de entre 60 a 80 mg de mentol L^{-1} (Medeiros-Junior <i>et al.</i> , 2018). Otro estudio en peces cebra reporta que 47-78 mg/L de mentol inducen anestesia dentro de 350-300 segundos, con un periodo de recuperación de 200-650 segundos (Hoseini <i>et al.</i> , 2018).

Eugenol

Eugenol (4-allyl-2-metoxifenol) es el ingrediente activo del aceite de clavo y constituye aproximadamente entre 70-95% del extracto. El aceite se destila de las flores, tallos y hojas del árbol de clavo (*Eugenia aromatica*). Es utilizado en la odontología como anestésico tópico, sin efectos secundarios y con propiedades anticancerígenas, antivirales, antimi-

crobianas y antifúngicas. Recientemente ha sido estudiado el uso del eugenol en los peces cebra por sus características anestésicas y considerado no mutagénico ni cancerígeno (Grush *et al.*, 2004). El eugenol induce anestesia más rápido a bajas concentraciones, en comparación con los anestésicos sintéticos, y el período de recuperación es amplio y puede producir fallas ventilatorias rápidamente cuando se usan altas concentraciones. Sin embargo, es uno de los anestésicos principales en la acuicultura (Sánchez-Vázquez *et al.*, 2011; Bernardes *et al.*, 2013).

Aloysia triphylla

La planta *Aloysia triphylla* pertenece a las *Verbenaceas*, es un arbusto sudamericano que fue introducido a Europa a finales del siglo XVII y se utiliza en la preparación de tés, como condimento y con fines medicinales. En nuestro país a esta planta se le conoce como té de cedrón. El AE es una mezcla de α -citral (geranial) y β -citral (neral) como componentes principales. El AE de *Aloysia* se emplea como sedante, digestivo y contra el resfriado. En los peces como el bagre (*Rhamdia quelen*) y el camarón (*Litopenaeus vannamei*), el AE tiene efectos anestésicos y sedantes (Zago *et al.*, 2018). El AE también proporciona actividad antibacteriana moderada contra cepas de *Aeromonas spp*, estimula la actividad antioxidante, previniendo la peroxidación de lípidos y supresión de la liberación de cortisol (dos Santos *et al.*, 2017; Junior *et al.*, 2018). En peces cebra, la suplementación con *A. triphylla* en el alimento proporciona bienestar (comportamiento ansiolítico) y no altera la concentración de cortisol durante la biometría (Zago *et al.*, 2018).

***Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown**

Es un arbusto aromático ampliamente distribuido en Centro y Sudamérica. De esta planta se han identificado algunos quimiotipos con actividad farmacológica (citral, carvona y linalol), con propiedades sedantes en roedores. Actualmente, el efecto anestésico del AE de la *Lippia* ha sido demostrado en el bagre plateado (*Rhamdia quelen*) y en el pez cebra adulto (*Danio rerio*), en el que atenúa la respuesta del cortisol al estrés y no es estresante. Además, el AE de la *Lippia* es un antioxidante y antimicrobiano natural (Junior *et al.*, 2018), por lo que es considerado un nuevo sedante natural y anestésico que puede ser usado en la acuicultura por sus efectos en reducir el estrés en los peces (Heldwein *et al.*, 2012).

En otro estudio, Bandeira *et al.* (2017) llevaron a cabo experimentos con dos AE, *A. triphylla* y *L. Alba*, en el pez cebra, y fueron ellos los primeros en reportar que los AE no inducen un comportamiento aversivo y muestran un efecto ansiolítico. Sin embargo, la exposición de *A. triphylla* indujo estrés, mientras que *L. alba* atenuó la respuesta en el pez cebra.

Lavendula angustifolia

El género lavándula comprende unas 20 especies de arbustos mediterráneos de hoja perenne con follaje y flores aromáticas. Los principales compuestos químicos que posee el AE de lavándula son el linalol, alcanfor, terpineno-4-ol, acetato de linalilo, β -ocymeno y 1,8-cineole. Son recomendados en la medicina tradicional para aliviar las convulsiones, la ansiedad, el insomnio y en el tratamiento de varios trastornos neurológicos. El AE de la lavándula tiene diferentes actividades biológicas y la mayoría de los estudios han investigado los efectos de su componente principal, el linalol, en la actividad cerebral (Caputo *et al.*, 2016). La inhalación de linalol causa efectos relajantes, y la combinación de linalol y el óxido de linalol puede ser un medio útil para contrarrestar la ansiedad (Yamada *et al.*, 1994). Para probar el efecto de la lavanda en el comportamiento ansioso en el pez cebra, se les administró diferentes dosis del AE, se examinó la respuesta endocrina y se probaron los niveles de cortisol en cada condición. La conclusión es que la lavanda disminuye el comportamiento de nado en los peces, en comparación con los no tratados (Smith y Kasper, 2020).

Menta arvensis

Esta planta es nativa de América del Norte, es rica en mentol y mentón. El AE es extraído de la planta *M. arvensis*, ampliamente utilizado en alimentos, cigarrillos y en la industria farmacéutica, con propiedades antiinflamatorias. Se ha clasificado al mentol como analgésico tópico y la exposición sistémica induce efecto anestésico leve en la ostra plana *Ostrea edulis* y efecto anestésico quirúrgico en los langostinos *Macrobrachium rosenbergii*. Está documentado que el mentol induce sensaciones de frío y dolor en los individuos. La aplicación de una dosis determinada de mentol o icilina está asociada a la percepción de enfriamiento o el alivio del dolor, mientras que el tratamiento con dosis altas de mentol provoca ardor (Kasai *et al.*, 2014; Medeiros-Junior *et al.*, 2018). En los peces cebra la con-

centración de mentol >0.4 mM produce una respuesta a la anestesia de 80%, y el tiempo de recuperación fue de 10 minutos (Kasai *et al.*, 2014).

Mentha spicata var. crispa lamiaceae

El AE salicilato de carvona-metilo (R - (+) carvona) en una cetona monoterpénica actúa como anestésico, disminuyendo la actividad motora y reduce significativamente la transducción nerviosa en ratones. Se ha demostrado que la carvona probablemente inhibe reversiblemente los canales de Na^+ a nivel nervioso, suprimiendo la transducción. Hasta el momento no se conoce el impacto fisiológico de la carvona en los peces, sin embargo, se han realizado estudios usando concentraciones de 95.09 mg/L de carvona en peces cebras y no suprime la respuesta inmune (Wulff, 2011). Un estudio más reporta que concentraciones de 10, 20 y 30 mg/L de aceite de carvona pueden ser usados con seguridad en peces cebras como anestésico. No obstante, no es recomendable como sedante durante la manipulación debido a sus efectos adversos sobre el comportamiento (Seyidoglu y Yagcilar, 2020). Es importante mencionar que aún se desconoce el impacto fisiológico de la carvona en la acuicultura, por lo que es importante desarrollar más estudios para determinar su uso.

Cuminum cyminum

El desarrollo de la planta del comino es anual, alcanza una altura de aproximadamente 30 cm y produce pequeñas flores blancas, rosas o lilas. Ha sido una especie utilizada como condimento y medicamento por los babilonios y los egipcios. Actualmente, también se usa como antimicrobiano y anestésico en peces (De M. *et al.*, 2003). Para corroborar esto, se llevó a cabo un estudio con *Cuminum cyminum* como agente anestésico en peces cebras, en donde se determinó que la concentración mínima fue de 0,24 ml/L, la cual induce anestesia a los 180 segundos, con un tiempo de recuperación en 300 segundos. Este estudio muestra el alto potencial del comino como anestésico en peces, los rangos reportados en este estudio (0.24-0.40 ml/L) parecen ser adecuados (Khosravanizadeh, 2020). Aún faltan estudios sobre su mecanismo de acción en peces cebras, así como determinar concentraciones para usarse en la eutanasia y determinar su toxicidad.

***Thymus vulgaris* L**

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.) es una especie de la familia *Lamiaceae*, que se comercializa en fresco o seco, principalmente para la extracción de su aceite esencial, que se encuentra en mayor cantidad en las hojas (Guerrero-Lagunes *et al.*, 2011). El llamado aceite de tomillo (*Thymus vulgaris*) se ha utilizado como un vendaje medicinal para humanos a través de la ciencia médica moderna. Tiene un papel protector sobre la inmunidad después de la anestesia. Seyidoglu y Yagcilar (2020) anestesiaron peces cebra a concentraciones de 1, 5 y 10 mg/L, con tiempos anestesia de 34 a 37 segundos y un tiempo de recuperación para la concentración de 5 mg/L de 200 segundos, y sólo 17 segundos, para la concentración de 1 mg/L. Es recomendable seguir realizando estudios para determinar las concentraciones y los tiempos de recuperación debido a que existe mucha variabilidad.

Pimpinella anisum

Conocido como anís, anís verde o matalahúva, es una planta aromática de la familia *Apiaceae* originaria del Asia sudoccidental. Las semillas se usan como condimento, antipirético, antiparasitario, antifúngico. También el anís es un sedante, antiespasmódico y últimamente ha sido considerado un AE. Los extractos alcohólicos y los aceites de anís pueden relajar los músculos por acción antagonista contra la contracción en diferentes órganos. Aún no se han reportado efectos anestésicos, sólo se han determinado efectos sedantes a concentraciones de 1, 5, 10, 20 y 30 mg/L en peces cebra (Seyidoglu y Yagcilar, 2020). Es necesario más estudios para descartar efectos tóxicos o fisiológicos.

Efectos no anestésicos de los AE en los procesos de manejo, transporte y estrés oxidativo en la acuicultura

Los AE tienen otras funciones, como participar en los cambios de algunos parámetros fisiológicos (incremento de los niveles de glucosa y lactato), provocados por la natación exhaustiva durante los intentos de escapar durante la manipulación en laboratorio, provocando hipoxia y estrés que desencadenaran una cascada hormonal a lo largo del eje hipotálamo-pituitario-interrenal e hipotálamo-simpático-cromafín (HSC), para evocar diversas reacciones fisiológicas para mantener la homeostasis corporal (Souza *et al.*, 2019).

También, los AE tiene algunas otras propiedades benéficas para la acuicultura, como moduladores de las respuestas inmunológicas y fisiológicas, así como las terapias antiestrés, antiinflamatoria, antioxidantes y como promotores de la salud del tracto gastrointestinal (propiedades antiparasitarias, bactericidas, bacteriostáticas, viricidas, fungicidas e insecticidas), con el fin de mejorar la resistencia a enfermedades. Así como, para mejorar el crecimiento y desarrollo de los peces, el bienestar animal y la eficiencia alimenticia, sin embargo, aun con todo lo mencionado anteriormente, estos compuestos son a menudo inestables y volátiles, lo que hace que las características químicas y físicas de los AE sean aspectos que habría que considerar en la investigación acuícola (Sutili *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

Los AE tienen ventajas sobre los compuestos sintéticos, cuando son usados como sedantes/anestésicos, además son ecológicos, rentables, no son aversivos, no causan efectos secundarios y son promotores de la salud (antimicrobiano y antiparasitarios), disminuyen las concentraciones de cortisol, la excreción de amoníaco, además mejoran el estado oxidativo y la regulación iónica. Sin embargo, es importante mencionar que es necesario determinar las concentraciones apropiadas, debido a que los AE son compuestos volátiles. Además, los efectos de los AE pueden variar debido al cultivo de la planta (quimiotipo, método de extracción, etapa fenológica, clima y parte anatómica donde se extrae el AE). Otro punto a considerar cuando se usan los AE, es que debe de ir acompañado de evaluaciones, como parámetros bioquímicos, hematológicos, alteraciones histológicas en los tejidos y en los órganos diana. Tomando en cuenta todos los puntos mencionados, la literatura internacional reporta que uno de los mejores AE utilizado como anestésico en la acuicultura es el eugenol (aceite de clavo).

Por último, el futuro de la anestesia con AE en los peces es utilizar la nanotecnología, como un elemento clave para perfeccionar las sustancias activas. La nano encapsulación disminuye la volatilidad, mejorando la estabilidad, solubilidad del agua y manteniendo la eficacia terapéutica. Todas estas investigaciones son de gran utilidad para la acuicultura y en los laboratorios de investigación, ya que los aceites esenciales, utilizados apropiadamente como anestésicos naturales, serían inocuos y amigables con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, A. *et al.* (2019). "Evaluation of the Anesthetic and Tranquilizing Effects of Clove Powder (*Syzygium aromaticum*) and Lavender Oil (*Lavandula officinalis*) in Convict Cichlid Fish (*Cichlasoma nigrofasciata*)", en *Iranian Journal of Veterinary Surgery*, 15(1): 1-7.
- Andropoulos, B. (2018). "Effect of anesthesia on the developing brain: infant and fetus", en *Fetal Diagn Ther*, 43: 1-11.
- Attili, S. y S. Hughes. (2014). "Anaesthetic tricaine acts preferentially on neural voltage-gated sodium channels and fails to block directly evoked muscle contraction", en *PloS One*, 9(8): 1-6.
- Aydın, B. y L. Barbas. (2020). "Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review", en *Aquaculture*, 520: 1-9.
- Bandeira, Jr. *et al.* (2017). "Lippia alba and Aloysia triphylla essential oils are anxiolytic without inducing aversiveness in fish", en *Aquaculture*, 482: 49-56.
- Bauquier, H. *et al.* (2011). "Evaluation of the sedative and anaesthetic effects of five different concentrations of alfaxalone in goldfish, *Carassius auratus*", en *Aquaculture*, 396(399): 119-123.
- Bernardes, J. *et al.* (2013). "Eugenol as an anesthetic for juvenile common snook", en *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(8): 1140-1144.
- Collymore, C. *et al.* (2014). "Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*)", en *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAA-LAS*, 53(2): 198-203.
- Caputo, L. *et al.* (2016). "Coriandrum sativum and Lavandula angustifolia Essential Oils: Chemical Composition and Activity on Central Nervous System", en *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1999): 1-12.
- Chávez, M. *et al.* (2016). "Essential oils: A natural alternative to combat antibiotics resistance, *Essential Oils*", en *Antibiotic Resistance*, 227-237.
- Collymore, Ch. *et al.* (2014). "Efficacy and Safety of 5 Anesthetics in Adult Zebrafish (*Danio rerio*)", en *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 53(2): 198-203.
- De M. *et al.* (2003). "Actividad Antimicrobiana de Cuminum cyminum L", en *Ars Pharmaceutica*, 44(3): 257-269.
- Diao, S. *et al.* (2014). "Mechanisms of action of general anesthetics", en *Frontiers in Bioscience*, 19: 747-757.

- Dos Santos, C. *et al.* (2017). "Anesthesia and anesthetic action mechanism of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Cymbopogon flexuosus* in silver catfish (*Rhamdia quelen*)", en *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 44: 106-113.
- Félix, L. *et al.* (2019), "Review on the use of zebrafish embryos to study the effects of anesthetics during early development", en *Crit Rev Toxicol.*, 49(4): 357-370.
- Guerrero, L. *et al.* (2011), "Efecto del cultivo hidropónico de tomillo (*Thymus vulgaris* L.) en la calidad y rendimiento del aceite esencial", en *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17(2): 141-149.
- Gottlieb, P. *et al.* (2019), "Stress-reducing and anesthetic effects of the essential oils of *Aloysia triphylla* and *Lippia alba* on *Serrasalmus eigenmanni* (Characiformes: Serrasalmidae)", en *Neotropical Ichthyology*, 17(2): 1-8.
- Grush, J. *et al.* (2004). "The Efficacy of Clove Oil as An Anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton)", en *Zebrafish*, 1(1): 46-53.
- Heldwein, G. *et al.* (2012). "Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil", en *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(5): 436-443.
- Hoseini, M. *et al.* (2018). "Application of herbal anaesthetics in aquaculture", en *Reviews in Aquaculture*, 0: 1-15.
- Junior, B. *et al.* (2018). "*Lippia alba* and *Aloysia triphylla* essential oils are anxiolytic without inducing aversiveness in fish", en *Aquaculture*, 482: 49-56.
- Kasai, M. *et al.* (2014). "Menthol Induces Surgical Anesthesia and Rapid Movement in Fishes", en *The Open Neuroscience Journal*, 8: 1-8.
- Khosravanizadeh, A. *et al.* (2020), "Anesthetic effects of *Cuminum cyminum* essential oil and 2-phenoxyethanol on zebrafish (*Danio rerio*)", en *Journal of Ornamental Aquatics*, 7(1): 17-25.
- Lis, M. y S. Hart. (1999). "Studies on the mode of action of the essential oil of Lavender *Lavandula angustifolia* P. Miller", en *Phytotherapy Research: International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 13(6): 540-542.
- Martins, T. *et al.* (2016). "Anaesthesia and analgesia in laboratory adult zebrafish: a question of refinement", en *Laboratory Animals*, 50(6): 476-488.
- Martins, T. *et al.* (2018). "Evaluation of anaesthetic protocols for laboratory adult zebrafish (*Danio rerio*)", en *PLoS ONE*, 13(5): 1-12.
- Martins, T. *et al.* (2019). "Anaesthetics and analgesics used in adult fish for research: A review", en *Laboratory Animals*, 53(4): 325-341.

- Matthews, M. y M. Zoltán. (2012). "Anesthesia and Euthanasia in Zebrafish", en *Institute for Laboratory Animal Research Journal*, 53(2): 192-204.
- Medeiros, E. et al. (2018). "Menthol and eugenol as natural anesthetics for early juveniles of curimba", en *Revista Brasileira de Zootecnia*, 47: 1-5.
- Pedrazzani, S. y A. Ostrensky. (2016). "The anaesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830)", en *Aquaculture Research*, 47: 769-776.
- Preckel, B. et al. (2006). "Molecular Mechanisms Transducing the Anesthetic, Analgesic, and Organ-protective Actions of Xenon", en *Anesthesiology*, 105: 187-97.
- Priborsky, J. y J. Velisek. (2018). "A Review of Three Commonly Used Fish Anesthetics", en *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(4): 417-442.
- Ross, G. y B. Ross. (2009). "Factors Affecting the Response of Aquatic Ectotherms to Anaesthesia", en *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals* –(65-68), 3rd ed. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- Sánchez, F. J. et al. (2011). "Daily Rhythms of Toxicity and Effectiveness of Anesthetics (MS222 and Eugenol) in Zebrafish (*Danio Rerio*)", en *Chronobiology International*, 28(2): 109-117.
- Seyidoglu, N. y Yagcilar. (2020). "The Anesthetic Role of Some Herbal Oils for Zebrafish", en *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University*, 17(3): 209-214.
- Silva, L. et al. (2013). "Sedative and anesthetic activities of the essential oils of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. and their isolated components in silver catfish (*Rhamdia quelen*)", en *Brazilian journal of medical and biological research*, 46(9): 771-779.
- Small, C. (2003). "Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*", en *Aquaculture*, 218(1/4): 177-185.
- Smith, A. y S. Kasper. (2020). "The Effects of Lavender Essential Oil on Anxious Behavior and Cortisol Levels in Zebrafish", en *The FASEB Journal*, 34: 1-1.
- Son, Y. (2010). "Molecular mechanisms of general anesthesia", en *Korean Journal of Anesthesiology*, 59(1): 3-8.
- Souza, F. et al. (2019). "Essential Oils as Stress-Reducing Agents for Fish Aquaculture: A Review", en *Frontiers in physiology*, 10(785): 1-17.
- Sutili, F. et al. (2017). "Plant essential oils as fish diet additives: Benefits on fish health and stability in feed", en *Reviews in Aquaculture*, 10(3): 716-726.
- Tavares, M. (2018). "Current knowledge on use of essential oils as alternative treatment against fish parasites", en *Aquat. Living Resour*, 31(13): 1-11.

- Vargas, R. *et al.* (2017). "Pez cebra (*Danio rerio*) y anestesia. Un modelo animal alternativo para realizar investigación biomédica básica", en *Anestesia en México*, 29(1): 86-96.
- Vargas, A. (2018). "Anesthesiology, Anesthetics and Zebrafish (*Danio Rerio*). An Animal Model to Perform Basic Biomedical Research", en *EC Anaesthesia* 4.6: 202-213.
- Wallace, K. *et al.* (2018). "Effectiveness of Rapid Cooling as a Method of Euthanasia for Young Zebrafish (*Danio rerio*)", en *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 57(1): 58-63.
- Wulff, R. (2011). "The impact of tricaine methanesulfonate, 2-phenoxyethanol, and carvone-methyl salicylate on the innate immune response of zebrafish (*Danio rerio*)", en *Honors Theses*, 621: 1-20.
- Yamada, K. *et al.* (1994). "Anticonvulsive effects of inhaling lavender oil vapour", en *Biol. Pharm*, 17: 359-360.
- Zago, C. *et al.* (2018). "*Aloysia triphylla* in the zebrafish food: effects on physiology, behavior, and growth performance", en *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(2): 465-474.
- Zahl, I. *et al.* (2011). "Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare", en *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 201-18.
- Zeppenfeld, C. *et al.* (2004). "Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton", en *Aquaculture*, 418-419: 101-107.