

Efecto de la administración de pentobarbital y propofol por vía intraperitoneal para cirugía estereotáxica en ratas adultas

María del Carmen Parra Cid,* Julieta García López,* Ricardo Mejenez López†

* Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia Celular y Medicina Regenerativa.
† Bioterio.

Instituto Nacional de Rehabilitación.

Dirección para correspondencia:
María del Carmen Parra Cid
Instituto Nacional de Rehabilitación
Calzada México-Xochimilco
Núm. 289,
Col. Arenal de Guadalupe,
14389, México, D.F.
Tel: 59991000, ext. 19604
E-mail:
carmelapcid@yahoo.com.mx

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave: Sistema nervioso, cerebro, cirugía estereotáxica, anestesia.

Key words: Nervous system, brain, stereotaxic surgery, anesthesia.

Resumen

La cirugía estereotáxica nos permitió localizar estructuras específicas del cerebro, por ser una técnica muy precisa. Para llevar a cabo la cirugía es necesario contar con un anestésico adecuado, esto para localizar la estructura del cerebro que se desea trabajar y que permita que el animal se recupere sin complicaciones. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración de pentobarbital mezclado con propofol por vía intraperitoneal, para realizar la cirugía estereotáxica en ratas adultas. Se utilizaron 25 ratas macho Wistar y se probaron tres dosis de pentobarbital (33, 40 y 43 mg/kg) a diferentes concentraciones (63 y 65 mg/mL), las cuales se mezclaron con propofol a una dosis de 40 mg/300 g (10 mg/mL), administrada vía intraperitoneal. Los resultados mostraron que con una dosis de 43 mg/kg (63 y 65 mg/mL) se obtuvo un mejor y rápido efecto para llegar a la anestesia profunda. La combinación de pentobarbital con propofol administrada vía intraperitoneal es una alternativa en el uso de anestésicos para una cirugía estereotáxica, con buen margen de seguridad y en la cual hay una recuperación rápida, evitando daños a nivel sistémico.

Abstract

Stereotactic surgery allows locating specific brain nuclei as it is a high precision technique. To perform on the surgery, it is required a suitable anesthetized brain to locate the area that is desired to work on and to allow the lab animal to recover without complications. The aim of this study was to evaluate the effect of pentobarbital and propofol intraperitoneally for general anesthesia before stereotactic surgery in adult rats. Were used Wistar male rats submitted to three different doses of pentobarbital (33, 40 and 43 mg/kg) at different concentrations (63 and 65 mg/mL) which were combined with propofol at 40 mg/300g (10 mg/mL) administered intraperitoneally. Results demonstrated that at a dose of 43 mg/kg (63 and 65 mg/mL) obtained a better and faster anesthetic effect. The combination of pentobarbital and propofol intraperitoneally is an effective alternative as an anesthetic procedure for stereotactic surgery, with good safety margin as well as with a prompt recovery. No systemic damage was produced.

Introducción

La cirugía estereotáxica permite localizar de manera muy precisa cualquier estructura del cerebro, manteniendo fija la cabeza del sujeto totalmente anestesiado, lo cual facilita situar un punto en particular en el espacio a partir de tres ejes; para el caso del cerebro, cada eje corresponde respectivamente a la dimensión medial-lateral, ventral-dorsal y anterior-posterior.¹ La ventaja de utilizar este tipo de cirugía se debe a su precisión y exactitud para localizar diferentes estruc-

turas en el cerebro,^{1,2} tanto en ratas adultas como en neonatas.³ Sin embargo, para la realización de este tipo de cirugía, así como para la localización correcta de una estructura del cerebro que se requiere ubicar, es necesario contar con una adecuada combinación de anestésicos que permitan llegar al efecto de anestesia profunda, en donde la falta de reflejos de respuesta a estímulos dolorosos sea nula (*Figura 1A*), de modo que se obtenga el tiempo necesario para poder situar la estructura deseada e inyectar diferentes sustancias que pueden ser desde neurotoxinas hasta diferentes

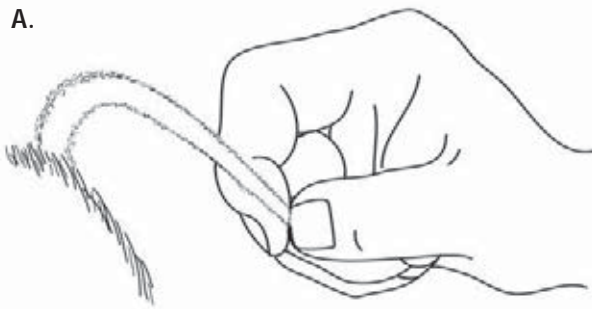
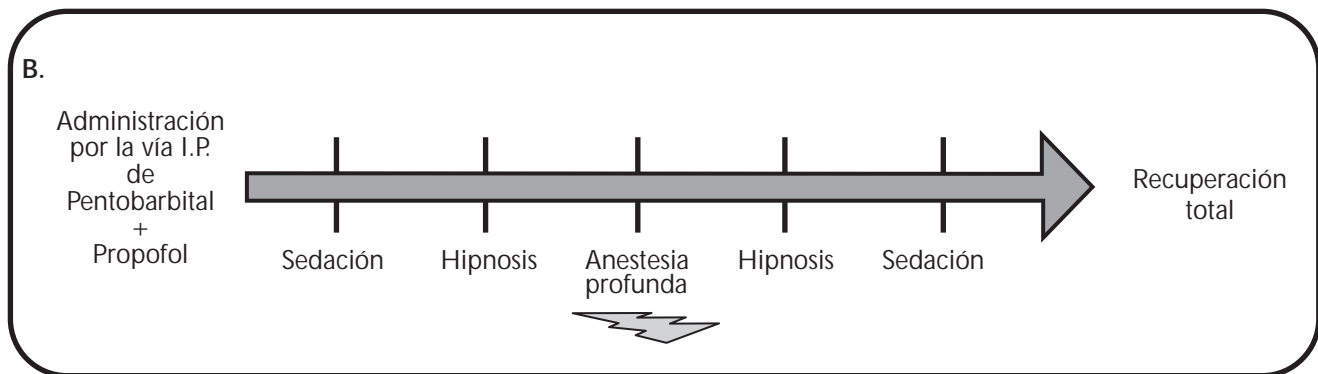


Figura 1. A. Una vez que se administró el pentobarbital/propofol, antes y durante la cirugía estereotáxica, se determinó el umbral del nociceptor, es decir, se aplicó una fuerza mínima en la cola de la rata para generar un estímulo que indujo al nociceptor y que éste generara un impulso nervioso mediante el movimiento de la cola, esto nos indicó la ausencia de dolor en presencia de tal estímulo. **B.** Se muestran las diferentes etapas que se consideraron para llegar a la anestesia profunda hasta la recuperación total.



péptidos o proteínas,⁴ lo que posteriormente permita la recuperación del animal sin complicaciones ni daños sistémicos. En el sentido más amplio, la anestesia puede definirse como una depresión global pero reversible de las funciones del sistema nervioso central,⁵ que se caracteriza por la ausencia de la percepción dolorosa y la respuesta motora a los estímulos externos.⁶ La ausencia de estos parámetros se ve reflejada en diferentes etapas, tales como la sedación (decremento en la capacidad de respuesta a un nivel de estimulación constante; el individuo es indiferente a lo que sucede a su alrededor y no siente los dolores de poca intensidad), la hipnosis (estado de sueño profundo con pérdida parcial de la conciencia; no apto para la cirugía), la anestesia (estado de inconsciencia e insensibilidad reversible, obtenido por intoxicación del sistema nervioso central, sin alterar las funciones vitales) y como el efecto es reversible se presentan también hipnosis y sedación⁷ hasta la recuperación total (disminución del plano anestésico) (Figura 1B), el cual se manifiesta mediante la excitación y la actividad motora.⁸ El pentobarbital y el propofol son dos de los anestésicos más utilizados en la práctica clínica de la medicina veterinaria. Para el caso del pentobarbital, la duración de la anestesia quirúrgica varía ampliamente, se considera que el efecto promedio tiene una duración de 30 min, la recuperación completa

ocurre en un lapso de seis a 18 h;⁹ mientras que el propofol es de duración media o larga^{10,11} a una dosis de inducción que dura de cuatro a siete min. El efecto, tanto del pentobarbital como del propofol, se debe a la unión de componentes moleculares al receptor GABA_A (ácido gamma aminobutírico), presente en diferentes estructuras como la corteza, el caudado-putamen y el núcleo caudado del sistema nervioso central. Como el propofol y el pentobarbital son moduladores de la transmisión gabaérgica, se ha demostrado que estos receptores pueden ejercer sus efectos farmacológicos como anestésico general mediante la mejoría de la función del canal de cloro;⁷ para el caso del pentobarbital aumenta la duración de la apertura de los canales de cloro controlados por GABA¹², inhibiendo las acciones de los neurotransmisores excitadores y ejerciendo efectos no sinápticos en la membrana. El propofol potencia la inhibición al modificar el canal de cloro, de manera que estos canales permanecen abiertos más tiempo tras la unión de GABA liberado de forma endógena.⁸ Debido a su mecanismo de acción, Chen y colaboradores demostraron que la activación de los receptores GABA_A inducida con propofol es potenciada 5.6 veces más que el mismo GABA; sin embargo, mezclando propofol con pentobarbital, la activación del receptor GABA es potenciada 6.1 veces más, mejorando la transmisión gabaérgica.¹³ En este trabajo

se propuso la utilización de una nueva combinación de anestésicos como el pentobarbital y el propofol, mediante la administración por vía intraperitoneal para la cirugía estereotáxica en ratas adultas.

Material y métodos

Animales de experimentación

Se utilizó un total de 25 ratas macho de la cepa Wistar, de 300-330 gramos, las cuales fueron alojadas en el Bioterio del Instituto Nacional de Rehabilitación, en cajas individuales, con agua y alimento *ad libitum*, y mantenidas con un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 h. El manejo y cuidado de los animales se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

Administración de fármacos

Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a cinco grupos ($n = 5$). Se utilizaron tres dosis de pentobarbital (33, 40 y 43 mg/kg) a dos diferentes concentraciones (63 y 65 mg/mL), mezcladas con propofol a una dosis de 40 mg/300 g (10 mg/mL), éstas se administraron por vía intraperitoneal (*Cuadro I*). Después de la administración de los fármacos, se consideraron los siguientes parámetros: sedación, hipnosis y anestesia profunda, este último cuando el animal presentó falta de reflejos de respuesta a estímulos dolorosos (*Figura 1A*) y, posteriormente, la hipnosis, la sedación y la recuperación total.

Cuadro I. Combinación de pentobarbital y propofol a diferentes dosis y concentración.

Pentobarbital		Propofol	
Dosis mg/kg	Concentración mg/mL	Dosis mg/300g	Concentración mg/mL
33	63	40	10
40	63		
43		40	10
40	65		
43			

Cirugía estereotáxica

Una vez que el animal mostró signos de hipnosis, se rasuró el área craneal y se montó la cabeza del animal en el marco estereotáxico, utilizando barras auditivas. Una vez fijada la cabeza, se limpió el área con solución de yodo al 2%; ya con el área aséptica, se realizó una incisión de aproximadamente 15 mm de largo, permitiendo que quedarán visibles las suturas óseas identificadas como bregma y lambda (según el atlas de Paxinos y Watson).¹ Una vez localizadas las suturas, fue removido el periostio raspando el tejido con una hoja del bisturí; con ayuda de las pinzas hemostáticas se sujetaron los bordes de la piel y el periostio, lo que permitió una mejor exposición de las suturas. A pesar de que la rata se encontraba en anestesia profunda, se le administró subcutáneamente, en el borde del área de la incisión, 10 UI de lidocaína (Laboratorios Unipharm) para asegurar que el animal no presentara algún reflejo de dolor. Se consideró la unión bregma como punto de referencia a la posición anteroposterior (AP) y lateral (L) que, en nuestro caso, para la sustancia negra compacta fue de AP = +5.5, L = -2.2 (según el atlas de Paxinos y Watson),¹ con una profundidad de P = -7.0 a partir de la dura madre. Una vez que fueron obtenidas las coordenadas, se realizaron las perforaciones a nivel de hueso parietal para situar la cánula guía; éstas fueron hechas gradualmente con ayuda de un mototool, levantándolo constantemente, cerciorándose de que no fuera perforada la dura madre, ya que esta fue necesaria para tomar la lectura de profundidad. Se hizo descender la torre hasta que la cánula guía tocó ligeramente la superficie de la duramadre y se tomó la lectura. Posteriormente, se rompió la duramadre y se hizo descender nuevamente, con cuidado, la torre que contenía a la cánula guía. Una vez que se llegó a la coordenada indicada, se inyectaron 2 μ L de azul de metileno (50 μ g/ μ L) (Sigma-Aldrich) a través de la cánula guía de una microjeringa Hamilton de 10 μ L, se fueron depositando lentamente 0.5 μ L, de uno a dos min entre cada inyección, para asegurar que los 2 μ L fueran inyectados en su totalidad. Una vez que se terminó de inyectar el azul de metileno, se retiró lentamente la cánula guía, se procedió a la administración de 72,000 U de antibiótico benzatina/bencilpenicilina (Laboratorios Química SON'S) vía intramuscular y, solución salina isotónica vía intraperitoneal (Fresenius Kabi México) para la recuperación de líquidos; se suturó la incisión mediante dos o tres puntos con hilo de sutura quirúrgica trenzada, con aguja 3-0 (Ethicon). Se verificaron las coordenadas un día después, sacrificando a las ratas por sobredosis de pentobarbital. Los cerebros

fueron retirados y fijados en paraformaldehído al 4% en PBS (pH = 7.4), por 24 h a 4 °C. Posteriormente, los cerebros se incluyeron en parafina y se cortaron a 10 µm en un micrótopo (Leica RM 2125RT), tomando un área de la zona anterior, aproximadamente entre -4.30 a -6.3 mm a partir del bregma.

Cuidados postoperatorios

Una vez que se terminó la cirugía, las ratas se mantuvieron a una temperatura constante de 37 °C a través de un colchón térmico (BE-220, Besmed). Cabe mencionar que también se contó con una unidad de oxígeno grado médico, debido a las complicaciones postoperatorias que presentó el 40% del grupo de ratas, como fue la obstrucción de las vías aéreas y la hipoventilación propias de la administración del pentobarbital con propofol. Durante la recuperación, los animales mostraron los mismos signos que durante la inducción de la anestesia profunda, sólo que en orden inverso; entre estos signos destacaron los temblores, los movimientos motores involuntarios, los movimientos de resistencia y un aumento de movimientos respiratorios seguidos por la recuperación del reflejo de erguirse y, finalmente, la habilidad de mantenerse en pie con titubeos; esto último lo consideramos como la recuperación total.

Análisis estadístico

El promedio \pm el error estándar fue calculado para el tiempo de latencia de cada efecto. Se determinó la distribución de las variables cuantitativas con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y, para comparar las medias en cada efecto, se aplicó la prueba de U de Mann Whitney. El valor de p que se consideró como estadísticamente significativo fue < 0.05 , con un intervalo de confianza del 95%. Se utilizaron los programas estadísticos Graph Pad Prism v5 y SPSS v19.

Resultados

Se buscó una dosis adecuada de pentobarbital mezclado con propofol para ser administrada a una sola dosis por vía intraperitoneal, para poder realizar la cirugía estereotáxica. En el caso de 33 mg/kg (63 mg/mL) de pentobarbital mezclado con propofol, sólo se presentó el efecto de sedación (dato no presentado). Cuando fue administrada una dosis de 40 mg/kg de pentobarbital mezclado con propofol (*Figura 2A*), el tiempo de latencia para la sedación fue de 18.38 ± 2.095 min, y de 1.25 ± 0.163 min para una concentración de 63 y

65 mg/mL, respectivamente, en donde se encontró una diferencia significativa a 65 mg/mL. El primer efecto de hipnosis a la concentración de 63 mg/mL se presentó a los 17.88 ± 0.742 min, mientras que para la concentración de 65 mg/mL fue de 2.62 ± 0.183 min, con diferencia significativa. El tiempo de latencia para la anestesia profunda a 63 mg/mL fue menor, presentándose a los 7.37 ± 0.263 min; mientras tanto, para la concentración de 65 mg/mL se observó un aumento en el tiempo de latencia de 21.25 ± 1.709 min, con diferencia significativa entre ambos grupos; después de la administración, para el caso del segundo efecto de hipnosis, se presentó a los 34.50 ± 1.035 y a los 53.13 ± 1.274 min, después de la anestesia profunda a 63 y 65 mg/mL, respectivamente, observándose una diferencia significativa en esta última concentración. Cuando se administró una dosis de 43 mg/kg de pentobarbital a una concentración de 63 y 65 mg/mL mezclado con propofol (*Figura 2B*), el tiempo de latencia para la sedación en ambos casos fue de 2.50 ± 0.267 min, sin encontrarse cambios significativos en ambos grupos. En el caso del tiempo de latencia de la primera hipnosis, se presentó a los 4.50 ± 0.380 y 4.00 ± 0.267 min, a una concentración de 63 y 65 mg/mL, respectivamente; sin encontrarse diferencia significativa entre ambos grupos. El tiempo de latencia a la anestesia profunda para 63 y 65 mg/mL fue de 10.88 ± 1.941 y 6.25 ± 0.250 min, respectivamente, por lo que se presentó una disminución significativa a una concentración de 65 mg/mL. Finalmente, el tiempo de latencia para la segunda hipnosis a una concentración de 63 y 65 mg/mL fue de 52.00 ± 6.676 y 44.38 ± 1.117 min, respectivamente; sin encontrarse diferencia significativa entre ambos grupos. Estos resultados nos mostraron que cuando se incrementó la dosis de pentobarbital a 43 mg/kg, a una concentración de 65 mg/mL, se obtuvo un mejor efecto al llegar a la anestesia profunda (*Figura 2B*) y, por lo tanto, el tiempo de recuperación fue menor respecto a la dosis de 40 mg/kg (*Figura 2A*).

Discusión

Al ser administrada una dosis de 33 mg/kg de pentobarbital (63 mg/mL) combinada con propofol (40 mg/300 g), el grupo de ratas sólo presentó incoordinación motora o sedación (dato no presentado). Esto estaría indicando que la dosis administrada no fue suficiente para actuar a nivel sistémico, aun siendo combinada con propofol, por lo que no se logró deprimir la respiración y la frecuencia cardíaca, lo cual se refleja con la ausencia de la hipnosis y anestesia. Sin embargo,

cuando se administró el pentobarbital a una dosis de 43 mg/kg (63 y 65 mg/mL) combinado con propofol (vía intraperitoneal), el tiempo que transcurrió para llegar al estado de hipnosis y anestesia profunda fue de 10 y 6 min, respectivamente. Estos datos están indicando que el tiempo para realizar la cirugía estereotáxica es

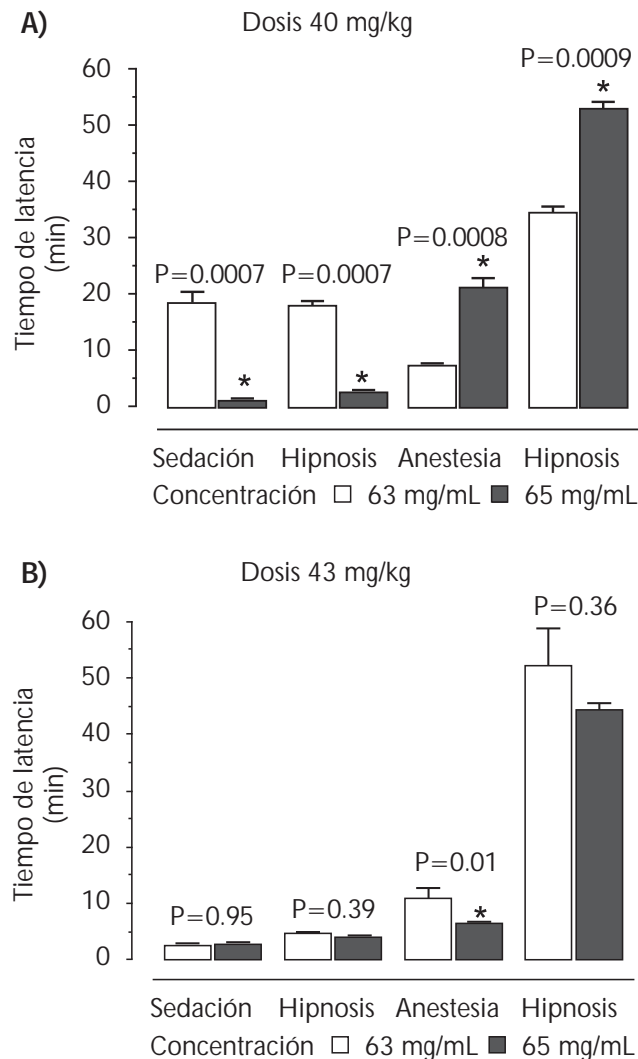


Figura 2 A y B. Efecto de la administración de pentobarbital con propofol. Se muestra el efecto de la administración de pentobarbital a una dosis **A)** 40 mg/kg y **B)** 43 mg/kg, combinado con propofol a una dosis de 40 mg/300 g ($n = 5/\text{dosis}$ y concentración de pentobarbital). Se muestra el tiempo de latencia para cada efecto hasta llegar al estado de anestesia profunda, así como su posterior recuperación a partir de la segunda hipnosis. Se realizó una prueba de U de Mann Whitney (* $p < 0.05$).

de aproximadamente 40 min, tiempo suficiente para localizar alguna estructura del cerebro, o bien, realizar el depósito de células o diferentes sustancias que se requieran utilizar a través de la cirugía estereotáxica.¹⁴ El tiempo que tardó en llegar a la hipnosis (tiempo que consideramos de recuperación postanestésica) fue de 52 y 44 min, respectivamente. Se ha reportado que el pentobarbital a nivel sistémico deprime moderadamente la respiración, la frecuencia cardíaca y la presión sanguínea (disminuyéndola durante 40-60 s) después de su administración,^{9,15,16} además de que la vía de administración del pentobarbital se ha reportado tanto por vía intravenosa como por vía intraperitoneal, para el caso de los roedores. Por otra parte, el propofol es considerado como un sedante hipnótico no barbitúrico, éste produce una rápida hipnosis con mínima excitación, además disminuye la presión arterial sistémica en un 30%, debido a la vasodilatación periférica más que por la acción del gasto cardíaco.¹⁷ Se ha descrito que el propofol sólo puede ser administrado por vía intravenosa en especies como el perro, gato, cerdo, conejo, primate, oveja¹⁸ y humano, más no en roedores; sin embargo, nosotros utilizamos la combinación de pentobarbital con propofol y éste fue administrado vía intraperitoneal. El primer efecto se presentó a los 60 s después de la administración de los fármacos; los animales presentaron una rápida sedación con un mínimo de excitación, lo cual coincide con lo reportado por la literatura cuando se administra el propofol, esto indicaría que la combinación de pentobarbital mezclado con propofol tiene como ventajas que su acción sobre el sistema nervioso central es muy rápida, ya que la inducción de la anestesia es rápida y buena, así como la recuperación. Podemos decir que esta mezcla de fármacos cumplió con todas las funciones de un buen anestésico, ya que demostramos que es un buen depresor del sistema nervioso central, generando buena analgesia y relajación muscular. Al ser administrados por vía intraperitoneal no se causó daño a nivel sistémico, esto lo constatamos en el transcurso del procedimiento quirúrgico y postquirúrgico, ya que los animales estuvieron en constante observación clínica, considerando su frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, coloración de la piel y mucosas, las cuales fueron constantes y sin complicación, aun cuando algunos animales fueron asistidos con oxígeno grado médico. En comparación con la mezcla de xilacina/ketamina que actúa a nivel de los receptores adrenérgicos α -2 del sistema nervioso central,¹⁰ la analgesia que producen éstos tiene una duración de 15-30 min, produce hiperglicemia y una marcada diuresis;¹⁸ se pueden presentar convulsiones

y se induce un aumento significativo en la presión del flujo sanguíneo,¹⁹ además la manipulación del animal, previa a la administración de la xilazina/ketamina, es importante porque pudiera no obtenerse una óptima sedación, a causa del estrés, el miedo, la excitación o el dolor en el animal.¹⁹

Conclusión

La combinación de pentobarbital con propofol administrada por vía intraperitoneal en ratas adultas es una alternativa como anestésico en cirugía estereotáxica, o bien, en otro tipo de cirugías en la cuales se requiera de una anestesia profunda por corto tiempo, de fácil aplicación, con un buen margen de seguridad, una recuperación rápida, sin alteración en la integridad respiratoria ni cardiovascular de manera importante y con ausencia de efectos colaterales adversos.

Bibliografía

1. Paxinos, G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 4ª ed. EE.UU.: Academic Press; 1998.
2. Limón ID, Ramírez E, Díaz A, Mendieta L, Mayoral MÁ, Espinosa B et al. Alteration of the sialylation pattern and memory deficits by injection of A β (25-35) into the hippocampus of rats. *Neurosci Lett* 2011; 495: 11-16.
3. Sierra A, Camacho-Abrego I, Escamilla C, Negrete-Díaz JV, Rodríguez-Sosa L, Flores G. Economical body platform for neonatal rats stereotaxic surgery. *Rev Neurol* 2009; 48: 141-146.
4. Limón ID, Mendieta L, Díaz A, Chamorro G, Espinosa B, Zenteno E et al. 2009b Neuroprotective effect of alpha-sarone on spatial memory and nitric oxide levels in rats injected with amyloid-(25-35). *Neurosci Lett* 2009; 453: 98-103.
5. Montoya DM. Farmacología de los anestésicos generales tiopental sódico y propofol [tesis de Maestría] México: Facultad de medicina, Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Colima; 2008.
6. McKelvey D, Wayne HK. Veterinary anesthesia and analgesia. 3ª ed. Missouri (USA): Mosby; 2003: 1-118.
7. Trevor AJ, Way WL. Sedantes hipnóticos. En: Katzung BG, eds. *Farmacología básica y clínica*. México: Manual moderno; 2001: 415.
8. Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. *Fundamentos de anestesia y analgesia en pequeños animales*. Barcelona: Masson; 2003.
9. Sumano LH, Ocampo CL. Agentes anestésicos fijos. En: Sumano LH, Ocampo CL (eds.). *Farmacología veterinaria*. México: McGraw-Hill; 1997: 393-405.
10. Pérez RA, Parra MJ, Merino DJ. Anestesia parenteral. En: Pérez RA, Parra MD, Merino DJ (eds.). *Manual de analgesia y anestesia en el perro*. España: McGraw-Hill Interamericana; 1999: 35, 36, 100.
11. Carrol GL, Hooper N, Slater MR et al. Detomidine-Butorphanol-Propofol for carotid artery translocation and castration or ovariectomy in goats. *Vet Anesth* 1998; 27: 75-82.
12. Concas A, Santoro G, Mascia MP, Serra M, Sanna E, Biggio G. The general anesthetic propofol enhances the function of gamma-aminobutyric acid-coupled chloride channel in the rat cerebral cortex. *Journal Neurochem* 1990; 55: 2135-2138.
13. Chen CI, Tang YR, Chiu TH. Activation of rat locus coeruleus neuron GABA(A) receptors by propofol and its potentiation by pentobarbital or alphaxalone. *Eur J Pharmacol* 1999; 386: 201-210.
14. Díaz A, De Jesús L, Mendieta L, Calvillo M, Espinosa B, Zenteno E et al. The amyloid-beta25-35 injection into the CA1 region of the neonatal rat hippocampus impairs the long-term memory because of an increase of nitric oxide. *Neurosci Lett* 2010; 468: 151-155.
15. Rall TW. Hipnóticos y sedantes. En: Goodman GA, Rall TW (eds.). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. México: Panamericana; 1993: 345-358.
16. Flecknell PA. Anaesthesia of common laboratory species: special considerations. En: Flecknell PA (eds.). *Laboratory Animal Anaesthesia*. San Diego: Academic Press; 1992: 89-110.
17. Marshall BE, Longnecker DE. Anestésicos generales. En: Goodman GA, Rall TW, Nies AS (eds.). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. México: Editorial Médica Panamericana; 1993: 309.
18. Pérez GB, Soriano RR, Villanueva SO, Villegas AF, Hernández GR, Carmona MA. *Guía de anestésicos más utilizados en animales de laboratorio*. México, D.F.; 2007.
19. Lemke K. Preanestésicos y anestésicos complementarios. En: Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. *Fundamentos de anestesia y analgesia en pequeños animales*. Barcelona, España, Masson; 2003: 101-149.