

# Estudio comparativo de la anestesia inducida por agonistas- $\alpha_2$ combinados con ketamina en ratas

Joaquín Cogo-Pagella, Ma. Fernanda Rodríguez, Ma. del Rosario López y Claudio Cervino\*

Instituto de Ciencias Básicas y Experimentales, Universidad de Morón, Morón, Buenos Aires, Argentina

## Resumen

**Objetivos:** a) Evaluar combinaciones anestésicas de xilacina (XC) y dexmedetomidina (DM), con clorhidrato de ketamina (CK) en ratas; b) comparar la duración y efectividad del estado anestésico bajo diferentes combinaciones de estas drogas. **Materiales y métodos:** Por medio de manifestaciones conductuales y registro de la duración y profundidad de la anestesia se registraron y cuantificaron los efectos anestésicos de distintas dosis: XC 3 mg/kg, DM 50 y 100  $\mu$ g/kg, CK 35 y 70 mg/kg, en ratas. **Resultados:** Algunas combinaciones produjeron solo anestesia general y otras alcanzaron la anestesia quirúrgica. **Discusión:** Tanto las combinaciones CK+XC como CK+DM son adecuadas para la anestesia en ratas, pero CK+DM es la mezcla más eficaz teniendo en cuenta que proporciona una apropiada anestesia general y quirúrgica. **Conclusión:** En conjunto, nuestros resultados confirman que la DM tiene mejores cualidades anestésicas que XC cuando se combina con CK.

**Palabras clave:** Agonistas  $\alpha_2$ -noradrenérgicos. Dexmedetomidina. Xilacina. Ketamina. Combinación anestésica. Ratas.

## Comparative study of $\alpha_2$ -agonist-induced anesthesia combined with ketamine in rats

### Abstract

**Objectives:** a) To evaluate anesthetic combinations of xylazine (XZ) and dexmedetomidine (DM), with ketamine hydrochloride (KH) in rats; b) compare the duration and effectiveness of the anesthetic state under different combinations of these drugs. **Materials and methods:** Through behavioral manifestations and recording the duration and depth of anesthesia, the anesthetic effects of different doses were recorded and quantified: XZ 3 mg/kg, DM 50 and 100  $\mu$ g/kg, KH 35 and 70 mg/kg, in rats. **Results:** Some combinations produced only general anesthesia while others achieved surgical anesthesia. **Discussion:** Both combinations of KH+XZ and KH+DM are suitable for anesthesia in rats, but the association of CK+DM is the most effective considering that it provides greater general and surgical anesthesia. **Conclusion:** Taken together, our results confirm that DM possesses better anesthetic and analgesic qualities than XZ when combined with KH.

**Keywords:**  $\alpha_2$ -noradrenergic agonists. Dexmedetomidine. Xylazine. Ketamine. Anesthetic combination. Rats.

### Correspondencia:

\*Claudio Cervino

E-mail: ccervino@unimoron.edu.ar

Fecha de recepción: 10-12-2021

Fecha de aceptación: 04-08-2022

DOI: 10.24875/RAA.21000011

Disponible en internet: 13-09-2022

Rev Argent Anesthesiol. 2021;79:11-19

www.revistaargentinaanestesiologia.com

0370-7792 © 2022 Federación Argentina de Asociaciones, Anestesia, Analgesia y Reanimación. Publicado por Permanyer México SA de CV. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introducción

La xilacina (XC) y la dexmedetomidina (DM) son agonistas de receptores  $\alpha_2$ -noradrenérgicos cuya farmacocinética y farmacodinamia se viene investigando desde hace varios años y han sido descritas convenientemente en la bibliografía<sup>1-5</sup>. Dentro de la familia de los receptores  $\alpha$ -noradrenérgicos, el subtipo  $\alpha_2$  se caracteriza por producir efectos analgésicos, sedantes y anticonvulsivantes.

La XC fue el primer agonista- $\alpha_2$  utilizado en veterinaria<sup>6</sup>. La combinación de XC y ketamina se ha utilizado de forma clásica en anestesia animal<sup>7,8</sup>.

La XC es un potente sedante, ansiolítico, analgésico no narcótico y relajante muscular<sup>9</sup>. La magnitud de sus efectos varía entre diferentes especies, siendo usada en animales domésticos, de laboratorio y silvestres, en especial asociada a tranquilizantes, opioides, disociativos y otros anestésicos, a los cuales potencia en forma significativa<sup>1</sup>.

Actualmente existe un creciente interés en el uso de DM en anestesiología animal y humana<sup>5</sup>. La DM se utiliza no solo como sedante o en combinación con otros fármacos para preanestesia, sino como fármaco intraoperatorio en infusión continua tanto en medicina veterinaria<sup>10</sup> como humana<sup>4,5</sup>. La sedación y analgesia generada por este fármaco es un efecto de la activación central de los receptores  $\alpha_2$  noradrenérgicos del sistema nervioso, principalmente los que se encuentran en el *locus coeruleus*<sup>11</sup>.

La DM, un imidazol que es el d-enantiómero de la medetomidina, es altamente receptor selectivo  $\alpha_2/\alpha_1$ , con una relación de selectividad de 1.620:1, con el doble de eficacia anestésica que la medetomidina y 40 veces más potente que la XC, esta última, con una selectividad receptores  $\alpha_2/\alpha_1$  de 160:1<sup>2,12</sup>. Los principales efectos que produce la DM son sedación, analgesia y simpaticólisis<sup>2</sup>, aunque se han descrito alteraciones en la función ventilatoria pulmonar y del sistema cardiovascular<sup>1-4</sup>. La DM proporciona una excelente relajación muscular y analgesia para procedimientos quirúrgicos<sup>13</sup>. El atipamezol es un potente antagonista- $\alpha_2$  utilizado para revertir el efecto de los agonistas de los receptores  $\alpha_2$ -noradrenérgicos<sup>1</sup>.

La asociación de la DM con otros fármacos disminuye los requerimientos de otros anestésicos como barbitúricos, opiáceos, benzodiazepinas, ketamina y agentes inhalatorios, y se ha referido un sinergismo de la DM con fármacos opiáceos agonistas puros, como el fentanilo, la meperidina o la morfina, independientemente de la vía de administración utilizada<sup>2</sup>.

El clorhidrato de ketamina (CK) es un anestésico general disociativo no competitivo que actúa de manera centralizada<sup>14,15</sup>. El CK proporciona amnesia, inmovilidad y cierto grado de analgesia. Debido a su capacidad limitada para proporcionar una relajación adecuada del músculo esquelético y las respuestas persistentes al reflejo del dolor, el CK se usa típicamente como anestésico adjunto<sup>16</sup>.

El principal mecanismo de acción del CK es su antagonismo no competitivo sobre el receptor NMDA-glutamato, e interactúa con receptores del sistema opioide, el sistema colinérgico y con el receptor de adenosina como agonista<sup>17</sup>. El CK es bien absorbido si se administra por las vías intraperitoneal e intramuscular en ratas, aunque la inyección intramuscular es dolorosa e irritante<sup>18</sup>, por lo cual la primera vía mencionada es la preferida. Entre las reacciones adversas del CK se han encontrado alteraciones cardiocirculatorias, respiratorias y de control nervioso<sup>19</sup>.

En ratas se ha propuesto el uso de dosis únicas, pero es mucho más común la utilización del CK (dosis 40 a 100 mg/kg) combinado con XC (dosis 5 a 13 mg/kg)<sup>20,21</sup>. Así, al combinar dos o más fármacos de diferente clase permiten potenciar los efectos farmacológicos deseados y permite reducir sus dosis y efectos secundarios.

De esta forma, surge el interés por profundizar el conocimiento sobre si la administración de DM puede actuar como un mejor agente inductor anestésico que la XC en ratas y, a su vez, al combinarla con CK puede disminuir la dosis anestésica necesaria de esta última. También, si a igual dosis de CK, duplicando la dosis de DM se obtiene un efecto anestésico proporcional.

En este trabajo, nos propusimos como objetivos: a) evaluar las combinaciones de los agonistas- $\alpha_2$ , XC y DM, con CK como agente anestésico en ratas, y b) comparar la duración y efectividad del estado anestésico bajo diferentes combinaciones de anestésicos agonistas- $\alpha_2$  con CK.

Por medio de las manifestaciones conductuales y registro de la duración y profundidad de la anestesia se trata de demostrar y cuantificar que la combinación CK+DM mejora los efectos anestésicos comparado con CK+XC para su utilización en animales de laboratorio.

## Materiales y métodos

### Consideraciones de los aspectos éticos y de seguridad

El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de

Laboratorio (CICUAL) de la Universidad de Morón (Acta N.º 5-19/3/2018). Los animales de experimentación fueron tratados siguiendo el código ético desarrollado por el *Canadian Council on Animal Care*<sup>22</sup>, como así también de acuerdo con las normativas argentinas.

### **Animales de experimentación**

Se utilizaron ejemplares de ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) adultas hembras, cepa Wistar, de peso entre 200 y 220 g. Una vez que los animales fueron ingresados se mantuvieron en condiciones de bioterio. El periodo de aclimatación fue de dos semanas antes de comenzar el estudio y fueron manipulados regularmente para habituarlos a los procedimientos futuros.

Los animales se mantuvieron en jaulas para ratas con cama de viruta de madera bajo un régimen de L: O 12:12 (encendido luz 8:00 h), temperatura ambiente  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  y con acceso *ad libitum* al agua y alimento equilibrado para ratas.

Los animales de experimentación no fueron ayunados antes de la administración de las drogas en orden de reducir el riesgo de hipoglucemia y deshidratación<sup>7,8</sup>.

### **Tipos y administración de las drogas**

La XC (Rompum<sup>®</sup>, Bayer) se inyectó con dosis de 3 mg/kg. La DM (Precedex<sup>®</sup>, Hospira Inc., EE.UU.) se inyectó con dosis de 50 y de 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . El clorhidrato de ketamina (Ketamina 50<sup>®</sup>, Lab. Holliday-Scott) se administró en dos dosis de 35 y de 70 mg/kg. El peso de los animales se determinó en gramos en forma individual para el cálculo de las dosis a inyectar. Todas las drogas se administraron por vía intraperitoneal (IP).

### **Protocolo experimental**

Las ratas (N = 60) fueron agrupadas al azar en 12 grupos experimentales; el grupo control y cada grupo de tratamiento contenía cinco ratas.

Dosis únicas (estudio piloto, [Tabla 1](#)) y combinadas (estudio principal, [Tabla 2](#)) de XC (3 mg/kg, IP), CK (35 y 70 mg/kg, IP) y DM (50 y 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , IP) fueron ensayadas en los animales. Se establecieron dosis anestésicas adecuadas en el estudio piloto<sup>23</sup>. En el estudio principal se analizaron los efectos de la anestesia bajo combinaciones de fármacos utilizando las dosis calculadas previamente.

En los tratamientos combinados se inyectó la mezcla de los dos anestésicos en una sola administración para evitar la inyección repetida, y así causar mayor estrés

a los animales. Todos los ensayos comenzaron a la misma hora (~15 h) del día para minimizar los efectos de los ritmos circadianos sobre el metabolismo de las drogas.

La evaluación de los efectos de los anestésicos se realizó registrando simultáneamente parámetros de anestesia relacionados con el tiempo, monitoreo cardíaco y movimientos ventilatorios.

### **Evaluación de los efectos en el tiempo de los anestésicos**

La duración y la profundidad del estado anestésico se evaluaron mediante la comprobación de los reflejos de enderezamiento (RE) y de retirada (RR). La pérdida de RR se consideró como indicativo del ingreso a la anestesia quirúrgica. Dicho reflejo se valoró «pellizcando» la región plantar metatarsiana de las extremidades posteriores (con una pinza plástica atraumática). Los indicadores que se describen a continuación fueron adoptados a partir de protocolos publicados<sup>8,24-27</sup> y los ya utilizados por nuestro grupo<sup>23</sup>.

Tanto en el grupo control como en los grupos tratados el momento de la administración de los fármacos fue registrado como «tiempo de inyección» (T0). A continuación cada animal, en una caja de policarbonato individual, fue observado para el seguimiento de las manifestaciones conductuales de incoordinación y ataxia hasta que perdía su RE (registrado como «tiempo de hipnosis», T1). Luego se colocó al animal en decúbito dorsal y fue gentilmente fijado por sus cuatro miembros sobre una superficie aislante para mantener la temperatura corporal. Durante todo el ensayo, los animales respiraron aire atmosférico y la temperatura ambiente se mantuvo a 22-25 °C.

Con el fin de evaluar la profundidad y la duración de la anestesia, se probó el RR cada 5 minutos después de que el animal fuera colocado en decúbito dorsal, alternando entre las extremidades izquierda y derecha. Con el fin de reducir las fuentes de variación en respuesta a los estímulos, todas las pruebas de comprobación de reflejos fueron realizadas y evaluadas por el mismo operador. Las respuestas fueron puntuadas con una escala de 0-2, con ausencia total del reflejo puntuado con 0 y con una fuerte respuesta de retiro con una puntuación de 2.

La profundidad de la anestesia se evaluó registrando la presencia (puntuación 1 o 2) o ausencia (puntuación 0) del RR, como se mencionó anteriormente. El punto en el que el RR fue negativo se registró como «tiempo quirúrgico» (T2). Luego, el punto en el que el

**Tabla 1.** Tratamientos en el estudio piloto, con ensayo de dosis únicas

Grupo	Tratamiento	N	Droga	Dosis
1	Control	5	Solución fisiológica (salino)	1,0 ml, IP
2	XC3	5	Xilacina	3 mg/kg, IP
3	CK35	5	Clorhidrato de ketamina	35 mg/kg, IP
4	CK70	5	Clorhidrato de ketamina	70 mg/kg, IP
5	DM50	5	Dexmedetomidina	50 µg/kg (0,05 mg/kg), IP
6	DM100	5	Dexmedetomidina	100 µg/kg (0,1 mg/kg), IP

N: número de animales ensayados; IP: inyección intraperitoneal.

RR dio una respuesta débil (puntuación 1) se registró como «tiempo de recuperación» (T3). El siguiente punto fue la recuperación del RE y se registró como «tiempo de enderezamiento» (T4). A continuación, los animales fueron devueltos a sus jaulas individuales hasta la recuperación de la actividad exploratoria (registrada como «tiempo exploratorio», T5) y observados durante las siguientes dos horas para detectar cualquier conducta anormal.

A partir de los registros de pérdida de reflejos y tiempos de recuperación, se definieron cinco intervalos: de inducción (II), de anestesia general (IAG), de anestesia quirúrgica (IAQ), de recuperación (IR) y de anestesia total (IAT) (Tabla 3).

### Análisis estadístico

Luego de tabular los tiempos (T0 a T5) correspondientes a los registros de los animales bajo distintos regímenes de anestesia, se calcularon los intervalos de la anestesia: II, IAG, IAQ, IR e IAT. Se calculó la media y desvío estándar para cada tratamiento e intervalo.

Los resultados del efecto de las distintas drogas y sus combinaciones fueron analizados mediante estadística descriptiva e inferencial, utilizando el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (nivel de significación  $p < 0,05$ ) (SigmaStat for Windows 3.5, Systat Software, 2006).

## Resultados

### Efectos temporales de los ensayos anestésicos

Se estudiaron 12 grupos diferentes, con los siguientes resultados (Tablas 4 y 5):

- En el grupo control y en los grupos XC3 y CK35 no se registraron efectos anestésicos.
- Los tratamientos CK70, DM50, DM100 y CK35 + XC3 indujeron solo anestesia general sin ingreso al plano quirúrgico.
- Los tratamientos CK70 + XC3, CK35 + DM50, CK70 + DM50, CK35 + DM100 y CK70 + DM100 indujeron anestesia general e ingreso al plano quirúrgico.

En la tabla 5 se observa que las combinaciones anestésicas CK35 + DM100, CK70 + DM50 y CK70 + DM100 muestran un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) del IAG en comparación con las otras combinaciones anestésicas, incluyendo las que contienen XC3. A su vez, las combinaciones CK70 + DM100 y CK35 + DM100 poseen los máximos efectos anestésicos y la combinación CK35 + DM100, la menor (Fig. 1). El IAQ representó el 85% del tiempo total del IAG (relación IAQ/IAG) en el grupo CK70 + DM100, el 63% en el grupo CK35 + DM100, el 60% en el grupo CK70 + DM50, el 55% en el grupo CK35 + DM50 y el 37% en el grupo CK70 + XC3. De esta forma, las combinaciones con dosis de CK70 y DM50 o DM100 ofrecieron una máxima duración de las anestésias general y quirúrgica, con una mayor relación IAQ/IAG para el tratamiento CK70 + DM100.

El IR, esto es, desde que el animal recupera el RE y luego deambula espontáneamente, es de alrededor de 10 min en los grupos con XC3, y de 20 a 30 min en los grupos con DM50 y DM100, independientemente de la combinación con CK35 o CK70.

Con respecto a las manifestaciones cardiovasculares, se observó una marcada bradicardia en la mayor parte de los tratamientos con DM, con registros de arritmias. Con respecto a los movimientos ventilatorios, se registró bradipnea y periodos de apnea en presencia de DM. Todos estos resultados justifican su presentación en otro nuevo artículo a ser publicado. En ratas con combinaciones anestésicas que contenían DM se observó poliuria.

Durante la inducción no se observaron excitaciones ni efectos secundarios adversos. Ninguna de las ratas murió durante o después de la anestesia.

**Tabla 2.** Tratamientos en el estudio principal, con ensayo de dosis combinadas

Grupo	Tratamiento	N	Combinación de drogas	Dosis
7	CK35 + XC3	5	Clorhidrato de ketamina+xilacina	35 mg/kg + 3 mg/kg, IP
8	CK70 + XC3	5	Clorhidrato de ketamina+xilacina	70 mg/kg + 3 mg/kg, IP
9	CK35 + DM50	5	Clorhidrato de ketamina+dexmedetomidina	35 mg/kg + 50 µg/kg, IP
10	CK70 + DM50	5	Clorhidrato de ketamina+dexmedetomidina	70 mg/kg + 50 µg/kg, IP
11	CK35 + DM100	5	Clorhidrato de ketamina+dexmedetomidina	35 mg/kg + 100 µg/kg, IP
12	CK70 + DM100	5	Clorhidrato de ketamina+dexmedetomidina	70 mg/kg + 100 µg/kg, IP

N: número de animales ensayados; IP: inyección intraperitoneal.

**Tabla 3.** Protocolo y tiempos de anestesia en ratas

Tiempo	Definición	Conducta	Intervalo				
T0	Tiempo de inyección	---	II = de inducción (T0-T1)				
T1	Tiempo de hipnosis	Pérdida RE		IAG = de anestesia general (T1-T4)			IAT = de anestesia total (T1-T5)
T2	Tiempo quirúrgico	Pérdida RR			IAQ = de anestesia quirúrgica (T2-T3)		
T3	Tiempo de recuperación	Recuperación RR					
T4	Tiempo de enderezamiento	Recuperación RE				IR = de recuperación (T4-T5)	
T5	Tiempo exploratorio	Deambulaci3n espontánea					

Se establecieron seis tiempos y cinco intervalos de anestesia. RE: reflejo de enderezamiento; RR: reflejo de retirada.

## Discusi3n

El uso de agonistas- $\alpha_2$  combinados con otras drogas como anestésico no es algo nuevo. La combinaci3n CK+XC ha sido ampliamente utilizada para inducir anestesia en ratas. Cuando el CK se combina con XC, se considera el agente de elecci3n para la anestesia inyectable para roedores y otros animales. La popularidad de la mezcla CK+XC se debe principalmente a que produce un inicio r3pido de la anestesia y a sus efectos suplementarios (es decir, propiedades analgésicas, relajaci3n muscular y sedaci3n). Aunque esta combinaci3n proporciona anestesia relativamente segura, ha demostrado dos dificultades. Por un lado, la elevada dosis de CK necesaria y, por el otro, varias limitaciones como un efecto anestésico inconsistente,

un tiempo de inducci3n prolongado, un plano anestésico inadecuado o un tiempo de anestesia muy corto<sup>28</sup>.

De tal forma, las investigaciones se encaminaron a desarrollar agonistas- $\alpha_2$  de mejor calidad, que proporcionen, de forma dependiente de la dosis, sedaci3n, analgesia y relajaci3n muscular. En este sentido, la DM se está popularizando cada vez más. Pero, al igual que los otros fármacos agonistas- $\alpha_2$ , no solo produce efectos clínicos deseables, sino que también produce una serie de efectos secundarios indeseables que se deben tener en cuenta a la hora de su administraci3n.

El objetivo del presente estudio fue evaluar combinaciones anestésicas del CK con dos agonistas- $\alpha_2$ . En medicina veterinaria, el CK es uno de los agentes anestésicos más utilizados en todas las especies

**Tabla 4.** Intervalos de anestesia en ratas bajo diferentes regímenes de anestesia, con ensayo de dosis únicas (ensayo piloto)\*

Grupo	Tratamiento	Intervalos de anestesia				
		II	IAG	IAQ	IR	IAT
1	Control	0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0 ± 0,0 <sup>c</sup>	0 ± 0,0	0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0 ± 0,0 <sup>c</sup>
2	XC3	0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0 ± 0,0 <sup>c</sup>	0 ± 0,0	0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0 ± 0,0 <sup>c</sup>
3	CK35	0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0 ± 0,0 <sup>c</sup>	0 ± 0,0	0 ± 0,0 <sup>b</sup>	0 ± 0,0 <sup>c</sup>
4	CK70	4 ± 1,4 <sup>b</sup>	37 ± 16,1 <sup>b</sup>	0 ± 0,0	6 ± 2,1 <sup>a</sup>	43 ± 17,5 <sup>b</sup>
5	DM50	83 ± 20,6 <sup>a</sup>	68 ± 21,4 <sup>b</sup>	0 ± 0,0	15 ± 3,7 <sup>a</sup>	83 ± 19,6 <sup>b</sup>
6	DM100	33 ± 16,0 <sup>a</sup>	137 ± 19,8 <sup>a</sup>	0 ± 0,0	9 ± 2,6 <sup>a</sup>	146 ± 23,7 <sup>a</sup>

\*Tiempos en minutos; media ± desviación estándar.

II: intervalos de inducción; IAG: duración de la anestesia general; IAQ: duración de la anestesia quirúrgica; IR: duración de la recuperación; IAT: duración de la anestesia total.

**Tabla 5.** Intervalos de anestesia en ratas bajo diferentes regímenes de anestesia, con ensayo de dosis combinadas (ensayo principal)\*

Grupo	Tratamiento	Intervalos de anestesia				
		II	IAG	IAQ	IR	IAT
7	CK35+XC3	6 ± 1,7	50 ± 25,9 <sup>c</sup>	0 ± 0,0 <sup>d</sup>	9 ± 1,9 <sup>b</sup>	59 ± 25,4 <sup>b</sup>
8	CK70+XC3	4 ± 0,9	93 ± 24,3 <sup>c</sup>	34 ± 10,5 <sup>d</sup>	11 ± 2,2 <sup>b</sup>	104 ± 25,2 <sup>b</sup>
9	CK35+DM50	3 ± 1,0	82 ± 16,7 <sup>c</sup>	45 ± 30,6 <sup>d</sup>	21 ± 8,8 <sup>a</sup>	103 ± 10,8 <sup>b</sup>
10	CK70+DM50	3 ± 1,4	264 ± 24,9 <sup>a</sup>	158 ± 35,2 <sup>b</sup>	30 ± 14,2 <sup>a</sup>	294 ± 32,5 <sup>a</sup>
11	CK35+DM100	5 ± 2,3	157 ± 52,5 <sup>b</sup>	99 ± 32,0 <sup>c</sup>	23 ± 7,0 <sup>a</sup>	180 ± 60,9 <sup>a</sup>
12	CK70+DM100	4 ± 1,0	316 ± 58,8 <sup>a</sup>	269 ± 67,2 <sup>a</sup>	17 ± 6,1 <sup>a</sup>	333 ± 69,2 <sup>a</sup>

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los grupos (prueba de Kruskal-Wallis y comparación múltiple por pares [Método de Dunn]).

\*Tiempos en minutos; media ± desviación estándar.

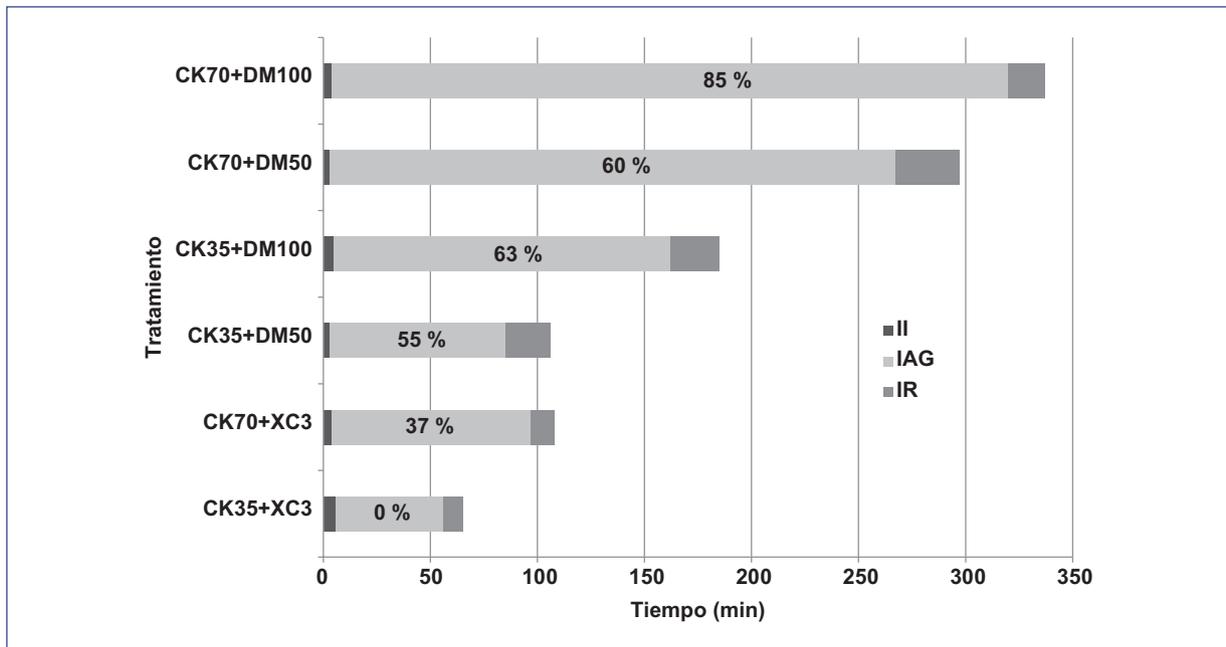
II: intervalos de inducción; IAG: duración de la anestesia general; IAQ: duración de la anestesia quirúrgica; IR: duración de la recuperación; IAT: duración de la anestesia total.

animales. Dicho fármaco induce un estado de sedación disociativa y analgesia, pero también ejerce efectos adversos en roedores, como depresión respiratoria a dosis altas, aumento de las secreciones salivales, relajación muscular deficiente, tiempo de inducción prolongado y anestesia general muy corta<sup>28-30</sup>. El CK es seleccionado como fármaco anestésico con dosis que oscilan entre 35 y 70 mg/kg IP, ya que en ratas la dosis puede variar entre 30 y 200 mg/kg y puede administrarse por distintas vías<sup>8,20,28,31</sup>.

El CK por sí solo no es un buen anestésico; generalmente se combina con otras drogas<sup>8,20,32-34</sup>. En nuestro estudio se comparó el uso de la XC y de la DM para establecer qué combinación con ketamina podría desarrollar un mejor efecto anestésico, que sea

adecuado y suficiente para distintas intervenciones quirúrgicas, así como periodos de inducción cortos y rápida recuperación espontánea. Las dosis de los agonistas- $\alpha_2$  en este estudio estuvieron de acuerdo con las dosis recomendadas por investigaciones anteriores<sup>8,20</sup>. La aplicación por vía IP proporciona un tiempo de pérdida del RE más corto, un IAG más largo y una pérdida más consistente de la respuesta de pelliczo del RR<sup>28</sup>.

En las ratas estudiadas, en todos los casos, la inducción anestésica fue suave y libre de excitación, lo que concuerda con lo descrito por otros autores<sup>34</sup>. El periodo de latencia (inducción) fue medianamente rápido y se atribuiría al efecto de la XC o de la DM como depresores del sistema nervioso central (SNC), lo que



**Figura 1.** Duración comparada de los intervalos de anestesia en ratas bajo diferentes regímenes de anestesia. Los números en cada barra indican el porcentaje de la relación IAQ/IAG (tratamientos: ver [Tabla 2](#)). II: intervalos de inducción; IAG: duración de la anestesia general; IAQ: duración de la anestesia quirúrgica; IR: duración de la recuperación.

determina que el animal entre en estado de anestesia más rápido<sup>35</sup>.

La duración del IAG, a igual dosis de CK, fue mayor con el uso de DM vs. XC, en particular con el uso de DM100. Con respecto al IAQ, sucede algo semejante. Esto puede deberse a que la acción depresora del SNC que produce la combinación CK+DM es más potente que la combinación CK+XC, lo que prolonga el periodo de anestesia. Esto está de acuerdo con la mayor selectividad de la DM sobre los receptores  $\alpha_2$ -noradrenérgicos comparado con la XC.

La recuperación desde la anestesia (IR) de las ratas bajo el efecto de combinaciones con DM fue dos a tres veces mayor que con el uso de XC. Esto puede asociarse a que los animales con DM presentaban una mayor depresión postanestésica por el efecto depresor sobre el SNC mediante la estimulación de receptores  $\alpha_2$ -noradrenérgicos, y su acción más potente que otros agonistas- $\alpha_2$ .

Una de las hipótesis que nos planteamos en este trabajo fue si la administración de DM, en ratas, actúa como un mejor inductor anestésico que la XC al combinarse, en ambos casos, con CK. En primer lugar, en los tratamientos con XC (3 mg/kg) combinada con CK (35 y 70 mg/kg) se comprueba la entrada al plano

anestésico (IAG), pero solo en el tratamiento de XC3+CK70 se llega al plano quirúrgico (IAQ). En segundo lugar, a las dosis utilizadas por nosotros se comprueba que tanto el IAG como el IAQ son significativamente mayores con la DM, comparado con la XC y combinados con igual dosis de CK ([Tabla 5](#)). En comparación con la XC, la combinación CK+DM no solo prolonga el IAG y el IAQ, sino que también aumenta la relación IAQ/IAG, como se observa en la [figura 1](#).

También nos preguntamos si la DM comparada con la XC puede disminuir la dosis necesaria de CK para lograr efectos anestésicos. Así, comparando tanto al IAG como al IAQ, la DM100 combinada con CK35 provee una mayor duración del efecto anestésico ( $p < 0,05$ ) que la combinación XC3 con CK70, de modo que el IAG es 1.7 veces mayor y el IAQ es 2.9 veces mayor, comparando los efectos anestésicos de las combinaciones CK35 + DM100 vs. CK70 + XC3, esto es, con una dosis un 50% menor de CK.

Además, nos propusimos evaluar si a igual dosis de CK (35 o 70 mg/kg) mejora el efecto anestésico utilizando DM a 50 o 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . De la [tabla 5](#) se desprende que cuando se duplica la dosis de DM, el efecto sobre la duración del IAG se duplica (1.9 veces) al

combinarlas con CK35 y aumenta 1.2 veces en combinación con CK70. Sobre el IAQ, con CK35 el intervalo se duplica (2.2 veces), y también aumenta con CK70, pero 1.7 veces, al duplicar la dosis de DM.

En la [tabla 5](#) se observa que cuando se duplica la dosis de CK, combinando con DM50, el IAG aumenta su duración 3.2 veces y con DM100 este intervalo aumenta su duración solo 2 veces. Con respecto al IAQ, al comparar las dosis 35 mg/kg con 70 mg/kg de CK, con DM50 el intervalo aumenta su duración 3.5 veces y con DM100 aumenta su duración 2.7 veces.

De tal forma, a igual dosis de CK, al duplicar la dosis de DM, el IAG con CK35 y el IAQ con CK35 y CK70 aproximadamente duplican su duración, pero a igual dosis de DM, al duplicar la dosis de CK, con la dosis de DM de 50  $\mu$ g/kg la duración del IAG y del IAQ aumentan más de 3 veces, y con DM100, el IAG se duplica y el IAQ casi se triplica.

Así, nuestros resultados confirman que el aumento de las dosis de DM no suele ir acompañado de mayores niveles de anestesia, aunque sí profundiza sus efectos. Por ejemplo, duplicar la dosis de DM de 50 a 100  $\mu$ g/kg en combinación con 35 mg/kg de CK aumenta el IAG y el IAQ cerca de dos veces. Pero la relación IAQ/IAG representa el 55% con la dosis más baja de DM y el 63% con la dosis más alta de DM. Algo semejante ocurre con el CK70 al duplicar la dosis de DM.

En el presente estudio con ratas, aparece un claro efecto de la DM sobre las propiedades anestésicas del CK, ya que en los tratamientos la combinación de DM (50 y 100  $\mu$ g/kg) con CK (35 y 70 mg/kg) se comprueba en todos los casos la entrada al plano anestésico (IAG), siendo mayor la duración de la anestesia (IAG e IAQ) para los tratamientos realizados con CK70. Comparando los tratamientos entre DM50 y DM100, se observa que el porcentaje del IAQ es mayor en los tratamientos CK70 + DM100 y CK35 + DM100. Esto indicaría que el CK afectaría más la duración del IAG y la DM afectaría más la duración del IAQ en proporción a la anestesia general.

En conjunto, nuestros resultados confirman que la DM tiene mejores cualidades anestésicas que la XC cuando se combina con CK, lo que resulta en una profundización del efecto analgésico (mayor duración del IAQ). Esto se explicaría a partir del valor de la relación de selectividad  $\alpha_2/\alpha_1$ , siendo la de la XC de 160/1, y en la DM de 1.620/1. Esta mayor afinidad de la DM sobre los receptores hace que las combinaciones anestésicas con esta droga depriman con mayor intensidad al SNC y posean, proporcionalmente, un IAQ más prolongado.

## Conclusiones

En este trabajo nos propusimos como objetivo evaluar las combinaciones de agonistas- $\alpha_2$ , XC y DM, con CK como agente anestésico en ratas. Se puede concluir al comparar la duración y efectividad del estado anestésico, que:

- Tanto las combinaciones de CK+XC como CK+DM son combinaciones de fármacos adecuadas para la anestesia IP en ratas.
- Los efectos del protocolo anestésico constituido por CK+DM, en nuestra experiencia, cumplieron con la mayoría de las condiciones requeridas para lograr una anestesia general segura para su utilización en ratas.
- CK+DM es la mezcla más eficaz teniendo en cuenta que proporciona un mayor IAG e IAQ, demostrando su eficacia en cuanto a su utilización.
- La combinación con DM disminuye la dosis necesaria de CK, disminuyendo así los efectos secundarios provocados por el anestésico disociativo.
- No se observaron reacciones colaterales negativas ni muerte de los animales en todos los ensayos realizados.

En conclusión, según nuestros resultados, la combinación de fármacos más efectiva fue CK35 + DM50, ya que con una baja dosis de CK se asegura una anestesia quirúrgica de alrededor de 45 min, tiempo suficiente para diversas intervenciones en animales, rápida inducción y recuperación espontánea en 20 min. Además, los parámetros cardiorrespiratorios no se registran muy deprimidos. Para intervenciones más largas en el tiempo, la mezcla CK35 + DM100 resulta en una anestesia adecuada y de mayor duración (IAQ = 99 min). Otra ventaja obvia es que los efectos de la DM se pueden revertir rápida y completamente mediante la administración de atipemazo<sup>1,2,35</sup>.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer la colaboración del alumno de grado Fabricio Frisina por su participación en el desarrollo de los experimentos.

## Financiamiento

Parte de esta investigación fue financiada, aparece la Fundación Universidad de Morón por medio del subsidio código PICT/18-00-CC-001.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

## Bibliografía

- Belda E, Laredo FG, Escobar M, Agut A, Soler M, Lucas X. Agonistas  $\alpha$ -2 adrenérgicos en sedación y anestesia veterinaria. *An Vet*. 2005;21:23-33.
- Fernández Moreno L, Luque Gómez M, San Andrés MI. Dexmedetomidina y otros agonistas  $\alpha$ 2 adrenérgicos en veterinaria. *Panorama Actual del Medicamento*. 2007;31(306):918-25.
- Cabrejo Saavedra CA. Dexmedetomidina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* [Internet]. 2011;12(6):1-11. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63622160014.pdf>
- Afonso J, Reis F. Dexmedetomidina: rol actual en anestesia y cuidados intensivos. *Rev Bras Anestesiol*. 2012;62(1):118-33.
- Carrillo-Torres O, Pliego-Sánchez MG, Gallegos-Allier MM, Santacruz-Martínez LC. Utilidad de la dexmedetomidina en diversos contextos en la medicina actual. *Rev Mex Anestesiol*. 2014;37(1):27-34.
- Clarke KW, Hall LW. Xylazine a new sedative for use horses and cattle. *Vet Rec*. 1969;85:512-7.
- Wixson SK, White WJ, Hughes HC, Lang CM, Marshall WK. A comparison of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam anesthesia in adult male rats. *Lab Anim Sci*. 1987;37:726-30.
- Flecknell P, editor. *Laboratory Animal Anaesthesia*. 4<sup>th</sup> Ed. Oxford: Academic Press; 2015.
- Paddleford RR. Preanesthetic agents. En: *Manual of small Animal Anesthesia*. Filadelfia: Saunders WB; 1999. pp. 12-31.
- Lin GY, Rohren JH, Murrell JC, Aspegren J, McKusick BC, Hellebrekers LJ. Dexmedetomidine constant rate infusion for 24 hours during and after propofol or isoflurane anaesthesia in dogs. *Vet Anaesth Analg*. 2008;35:141-53.
- Scheinin M, Schwinn D. The locus coeruleus: site of hypnotic actions of  $\alpha$ 2-adrenoceptor agonists? *Anesthesiology*. 1992;76:873-5.
- Ko JC, Raffe MR, Tomohito I, Knesl O, Weil AB. Making the switch from medetomidine to dexmedetomidine. *Compend Contin Educ Vet Pract*. 2009;31:1-16.
- Alvaides RK, Neto FJ, Aguiar AJ, Campagnon D, Steagall PV. Sedative and cardiorespiratory effects of acepromazine or atropine given before dexmedetomidine in dogs. *Vet Rec*. 2008;162:852-6.
- Plumb DC. *Plumb's veterinary drug handbook*. Hoboken, NJ: Wiley and Sons; 2011.
- Kohtala S. Ketamine-50 years in use: from anesthesia to rapid antidepressant effects and neurobiological mechanisms. *Pharmacol Rep*. 2021;73:323-45.
- Buitrago S, Martín TE, Tetens-Woodring J, Belicha-Villanueva A, Wilding GE. Safety and efficacy of various combinations of injectable anesthetics in BALB/c mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2008;47:11-7.
- Sleigh J, Harvey M, Voss L, Denny B. Ketamine - More mechanisms of action than just NMDA blockade. *Trends Anaesth Crit Care*. 2014;4(2):76-81.
- Smiler KL, Stein S, Hrapkiewicz KL, Hiben JR. Tissue response to intramuscular and intraperitoneal injection of ketamine and xylazine in rats. *Lab Anim Sci*. 1990;40:60-4.
- Short B, Fong J, Galvez V, Shelker W, Loo CK. Side-effects associated with ketamine use in depression: a systematic review. *Lancet Psychiatry*. 2018;5(1):65-78.
- Hawk CT, Leary SL, Morris TH, editores. *Formulary for laboratory animal*. 3er Ed. Iowa: Blackwell Publishing; 2005.
- Office of Animal Resources Institutional Animal Care and Use Committee. *IACUC Guidelines: Anesthesia* [Internet]. University of Iowa; 2017 [consultado: 5 de junio 2021]. Disponible en: <https://animal.research.uiowa.edu/iacuc-guidelines-anesthesia>
- Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA. *Guide to the care and use of experimental animals*. 2<sup>nd</sup> Ed. Vol.1. Ottawa: Canadian Council on Animal Care; 1993.
- Bello N, Cogo Pagella J, Iodice O, Cervino C. Efectos de la combinación melatonina con clorhidrato de ketamina sobre regímenes estándar de anestesia en ratas. *Rev Arg Anest*. 2018;76:75-84.
- Smith W. Responses of laboratory animals to some injectable anaesthetics. *Lab Anim*. 1993;27(1):30-9.
- Whelan G, Flecknell PA. The use of etorphine/methotrimeprazine and midazolam as an anaesthetic technique in laboratory rats and mice. *Lab Anim*. 1994;28:70-7.
- Rebuelto M, Ambros L, Waxman S, Montoya L. Chronobiological study of the pharmacological response of rats to combination ketamine-midazolam. *Chronobiol Int*. 2004;21:591-600.
- Alves HC, Valentim AM, Olsson IAS, Antunes LM. Intraperitoneal propofol and propofol fentanyl, sufentanil and remifentanyl combinations for the mouse anaesthesia. *Lab Anim*. 2007;41:329-36.
- Struck MB, Andrutis KA, Ramirez HE, Battles AH. Effect of a short-term fast on ketamine-xylazine anesthesia in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2011;50:344-8.
- Dittmar MS, Fehm N, Vatankhah B, Horn M. Ketamine-xylazine anesthesia for radiologic imaging of neurologically impaired rats: dose response, respiratory depression, and management complications. *Comp Med*. 2004;54:652-5.
- Welberg LAM, Kinkead B, Thirivikraman KV, Huerkamp MJ, Nemeroff CB, Plotsky PM. Ketamine-xylazine-acepromazine anesthesia and postoperative recovery in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2006;45:13-20.
- Redfors B, Shao Y, Omerovic E. Influence of anesthetic agent, depth of anesthesia and body temperature on cardiovascular functional parameters in the rat. *Lab Anim*. 2014;48:6-14.
- Arras M, Autenrie P, Rettich A, Spaeni D, Rulicke T. Optimization of intraperitoneal injection anaesthesia in mice: drugs, dosages, adverse effects, and anaesthesia depth. *Comp Med*. 2001;51:443-56.
- Orr AE, Roughan JV, Flecknell PA. Assessment of ketamine and medetomidine anaesthesia in the domestic rabbit. *Vet Anaesth Analg*. 2005;32:271-9.
- Wellington D, Mikaelian I, Singer L. Comparison of ketamine-xylazine and ketamine-dexmedetomidine anesthesia and intraperitoneal tolerance in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2013;52:481-7.
- Muir W, Hubbell J. *Manual de anestesia veterinaria*. Zaragoza: Acibia; 1992.