

Ratlarda Etkili ve Güvenli Anestezi Metodları

Effective and Safe Anesthesia Methods in Rats: Review

Dr. Lütfi YAVUZ,^a
Dr. Berit Gökçe CEYLAN,^a
Dr. Füsün EROĞLU^a

^aAnesteziyoloji ve Reanimasyon AD,
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi, Isparta

Geliş Tarihi/Received: 05.11.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 02.04.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Füsün EROĞLU
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD,
Isparta,
TÜRKİYE/TURKEY
eroglufusun@hotmail.com

ÖZET Laboratuvar hayvanlarında trankilizan, anestetik ve analjeziklerin uygun şekilde kullanılması biyomedikal araştırmacılar için ahlaki, hukuki ve bilimsel bir öneme sahiptir. Bilimsel araştırma yapan kişiler, deneysel veya eğitim amaçlı kullanılan hayvanlarda, ağrı ya da rahatsızlık hissini önlemekle yükümlüdürler. Özellikle hayvan modelinde cerrahi bir girişim gerekli ise ağrı ve stres en aza indirilmelidir; bu da uygun anestetik ve analjezik yöntemlerinin kullanılmasıyla sağlanabilir. Tıptaki gelişmelere bağlı olarak deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalar da günümüzde gitikçe daha fazla önem kazanmakta ve artmaktadır. İnsanlarda ve diğer omurgalı hayvanlarda oluşan fizyolojik olayların hepsi ratlar üzerinde kolaylıkla çalışılabilir. Bu nedenle deneysel çalışma için en çok kullanılan denek fare ve rattır. Ratlarda ideal bir anestezi için, tek bir anestetik, tek bir yöntem tanımlanamamaktadır. Çalışılacak konuya göre, kullanılacak anestetik ajanlar önceden belirlenmeli, ajanın yan etkilerinin çalışmayı etkilemeyecek özellikte olması göz önünde bulundurulmalıdır. Uygun anestezi uygulanmamış ratlardan elde edilecek verilerin bilimsel güvenilirlikleri de tartışmalı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Rat; anestezi, anestetik

ABSTRACT Proper usage of tranquilizer, anaesthetic and analgesic agents in laboratory animals have moral, legal and scientific importance. Scientific researchers are responsible for preventing pain or sense of discomfort in animals that are used for the aim of experimental or training. If especially a surgical procedure is required in an animal modal pain and stress should be minimized; this can be provided by using proper anaesthetic and analgesic methods. Studies performed on laboratory animals are enhancing and gaining more importance gradually due to improvements in medicine. All of the physiological events that occur in humans and the other spined animals can be studied on rats. For this, mouse and rat are the most studied test subject for experimental studies. No unique anaesthetic and anaesthesia type can be defined for the ideal anaesthesia of rats. The anaesthetic agents should be chosen predetermination according to the subject that will be studied; the point that the adverse effects of the agent should not affect the study should be considered. The data that will be obtained from rats that the proper anaesthesia has not been performed on will be controversial.

Key Words: Rat; anesthesia, anesthetics.

Türkiye Klinikleri J Anest Reanim 2010;8(1):49-54

Deneysel çalışmalarda kullanılan laboratuvar hayvanlarında bilimsel ve etik nedenlerle ağrı ve huzursuzluğun giderilmesi gerekmektedir. Uygulanması gereken anestezi, kullanılan laboratuvar hayvana, deney protokolüne göre değişken ve geniş kapsamlı bir konudur.¹

Çünkü her bir hayvan modeli, farklı anestetik reaksiyonlar ve tolerans içermektedir. Tüm laboratuvar hayvanları arasında kemirgenler; fareler ve ratlar deneysel amaçlı kullanılmak üzere en çok tercih edilen hayvanlardır.² Laboratuvar koşullarında mükemmel deneysel çalışma şartlarını sağlayan ratlarda, insanlar ve diğer omurgalı hayvanlarda oluşan fizyolojik olayların hepsi kolaylıkla çalışılabilir.

Laboratuvar hayvanlarında trankilizan, anestetik ve analjeziklerin uygun şekilde kullanılması biyomedikal araştırmacılar için ahlaki, hukuki ve bilimsel bir öneme sahiptir. Deney hayvanlarında anksiyete ve ağrıyı giderici önlemleri şart koşan Laboratuvar Hayvanları için Kullanım ve Bakım Komitesi Enstitüsünün rehberi (The Institutional Animal Care and Use Committee-IACUC) (*Guide for Laboratory Animal Facilities and Care*) ilk olarak 1963 yılında yayınlanmıştır.³ Bilimsel araştırma yapan kişiler, deneysel veya eğitim amaçlı kullanılan hayvanlarda, ağrı ya da rahatsızlık hissini önlemekle yükümlüdürler. Özellikle hayvan modelinde cerrahi bir girişim gerekli ise ağrı ve stres en aza indirilmelidir.⁴

RATLARIN BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Ratların keskin duyma yetisine sahip olmaları onları yüksek perdeden seslere duyarlı kılar. Görme yetilerinin ise çok zayıf olması nedeniyle renk ve kızıl ötesi ışıkları algılamakta zorlanırlar. Ratın kuyruğu ısı değişimi için primer organıdır. Gün ışığını çoğunlukla dinlenme, uyku ve sindirim için kullanırlar. Ratlar primer beslenme saatleri olan akşam saatlerinde aktiftirler. Buna bağlı olarak ratları elle tutularak yapılacak işlemleri, artmış aktiviteleri nedeniyle akşam saatlerinde gerçekleştirmek daha zordur.^{5,6} Ratlarla ilgili biyolojik veriler Tablo 1’de gösterilmiştir.

RATLARDA ANESTEZİ

Ratlar için kullanılacak anestezi metodu normal veterinerlik bakım standartları içerisinde olmalıdır. Hayvanlarda anestezi ve ağrı tedavisi hayvan kullanım protokolünün esas komponentleridir; IACUC önerilerine göre anestezi uygulanmalıdır.

TABLO 1: Ratların biyolojik verileri.

Erişkin erkek vücut kitlesi	450-520 g
Erişkin dişi vücut kitlesi	250-320 g
Yiyecek tüketimi	10 g/100 g/gün
Su tüketimi	10-12 mL/100 g/gün
Gestasyonel periyot	21-23 gün
Vücut ısısı	35.9-37.5 °C
Kalp tepe atımı	250-450 atım/dk
Solunum hızı	70-115 /dk
Tidal volüm	0.6-2.0 mL

İDEAL ANESTETİK-ANALJEZİK REJİM

İdeal anestetik tekniğin birinci koşulu premedikasyonu sağlamaktır. Dozların mutlaka titre edilmesi gerekir. Amaç; hemodinamik instabilite ve hayatı tehdit edici yüksek dozlara ulaşmadan bilinçsizlik ve hareketsizliği sağlamaktır. Anestezi derinliği klinik yanıtla ve somatosensoryel reflekslerin varlığı ile belirlenir.⁷

İdeal anestezide postoperatif istenmeyen yan etkiler, indüksiyon ve derlenme esnasında ise ağrı ve sıkıntı olmamalıdır.

PREMEDİKASYON

Denek hayvanlarında pre-anestetik ilaç uygulanması endikasyonları arasında, hayvanın elle tutulmasının kolaylaştırılması, indüksiyon ve idame dozlarının azaltılması sayılabilir.⁸ IACUC önerilerine göre cerrahi başlangıcından 30 dk önce 4 adet ilaç kombinasyonunun kullanılmasıyla premedikasyon sağlanabilir:⁹

1. Opioid analjezikler (buprenorfin),
2. Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (meloksikam, ibuprofen),
3. Dissosiyatif anestetikler/sedatifler (ketamin, tiletamin),
4. Lokal-rejyonel anestetikler (lidokain, bupivakain).

Premedikasyonun derlenmeyi geciktirme ve ek enjeksiyon stresi oluşturması dezavantaj yaratabilir.

UYGULAMA YOLLARI

Oral yol genel anestezi uygulaması için sık başvuru- rulan bir yol değildir; damak yapısına ilişkin problemler, dozaj güçlükleri, değişken emilim hızları ve etki başlamasındaki düzensizlikler oral yol uygulamalarında sorun oluşturabilir.¹⁰⁻¹²

İntramusüler enjeksiyon önerilmemekle birlikte sıklıkla kuadriseps kasına yapılır. Subkutan enjeksiyon intramusüler enjeksiyona alternatif olarak tercih edilmektedir.¹¹

Nispeten büyük hacimde ilaç uygulanmasına olanak sağlayan intraperitoneal yol, ratlarda en sık kullanılan yolu oluşturur. Uygulanacak ajanın intraabdominal organları zedelememesi için alt abdominal kadrana verilir.^{11,12}

Fare ve ratlarda kuyruk venleri ideal intravenöz enjeksiyon bölgeleridir. Ulaşılabilen periferik venlerden intravenöz yol da kullanılmaktadır. Juguler, femoral, sefalik ve lateral safen venler kate- ter yerleştirilmesi ve intravenöz enjeksiyon için yaygın olarak kullanılır.^{11,12}

Gaz anestetikler için solunum yolu ile uygulama ratlarda hızlı manipülasyon ve daha büyük tür- lerde genel anestezi uygulaması için oldukça yaygın bir yoldur.¹²

ANESTETİK AJANLARIN VE DOZLARININ SEÇİMİ

Oda ısısı, karanlık ve aydınlık siklusları ile zemin materyali gibi fizik çevre koşulları terapötik ve anestetik ajanlara karşı deney hayvanının cevabını etkilemektedir. Denek hayvanlarında anestetik ve analjezik ajanlara olan yanıtta farklılıklar kısmen genetik profil farklılıkları ile açıklanabilir.¹³

Tipik bir alfa 2 agonist ajan olan xylazin analjezik, sedatif ve kas gevşetici etkiye sahiptir ve ketaminle birlikte dengeli bir genel anestezi rejimi oluşturmak için kullanılır.¹⁴ Yine diazepam ketamin kombinasyonu; diazepamın santral kas gevşemesi, antikonvülzan ve amnezik etkilerinden faydalanılması ve ketaminin kardiyovasküler yan etkilerini azaltması amacıyla tercih edilebilir.¹⁵ Ratlarda sık kullanılan parenteral anestetik ajanlar Tablo 2'de gösterilmiştir.⁹ Dietyl eter, ha-

TABLO 2: Ratlarda parenteral anestetik dozları.

İlaç	Doz	Yol
Pentobarbital	10 - 45 mg/kg	İP
Pentobarbital	10 - 50 mg/kg	İV
Xylazin	4 - 8 mg/kg	İM
Ketamin (10 mg/ml sol)	40 - 160 mg/kg	İP
Ketamin	20 - 40 mg/kg	İM
Ketamin+Xylazin	40 + 5 mg/kg	İP
Ketamine+Xylazin	60 + 7.5 mg/kg	İM
Ketamine+Medetomidin	75 + 0.5 mg/kg	İM
Propofol	10 mg/kg	İV
Lidokain	7 mg/kg geçmemeli	SC, insizyon
Bupivakain	8 mg/kg geçmemeli	SC, insizyon

lotan, kloroform ve metoksifluran anestezi indüksiyonu ve idamesinde solunum yoluyla kullanılabilir.

Tüm cerrahi işlemler ve deneysel amaçlar için bir tek anestetik ajanı, dozajı ya da rejimi ideal değildir. Araştırmacılar, araştırma projelerinde kullanmayı düşündükleri herhangi bir anestetik ajanın yan etkilerini, ilaç etkileşimleri ve ilaç özelliklerini ayrıntılı olarak bilmelidirler.

VOLATİL ANESTETİKLER

Deney hayvanlarında modern inhalasyon ajanlarının iv ajanlara avantajı daha hızlı bilinçsizlik düzeyi sağlamaları dolayısıyla ataksi epizodlarında yaralanma riskini azaltmalarındadır.¹⁶ Ratlarda, sıvı formdaki volatil anestetiklerin direkt intravenöz enjeksiyonunun genellikle letal olduğu yönünde bilgiler olmasına rağmen,¹⁷ halotan ve izofluranın emülsiyon formunun intravenöz yolla güvenle kullanılabilceği yönünde yayınlara da rastlanmaktadır.¹⁸⁻²² Ratlar gibi küçük memelilerde volatil ajanlarla anestezi indüksiyonu çoğunlukla bir çember aracılığıyla veya burun konisiyle yapılabilir, köpekler ve kediler gibi büyük hayvanlarda ise yüz maskesiyle sağlanır.²³

İzofluran, halotan ve sevofluran vaporizatör yoluyla dozlarının daha kolay ayarlanabilmesinden dolayı enjektabl ajanların ilave dozlarının verilmesinden çok daha emniyetli ve derin anestezi sağlarlar.^{2,12} Aynı zamanda dozların azaltılması da

enjektabl ajanların verilmesinden çok daha kolaydır. En önemli dezavantajı ise vaporizatör kapatıldıktan sonra rezidüel analjezik etkinin olmamasıdır.²⁴ Metoksifluran, düşük buhar basıncına sahip olduğu için diğer ajanlardan farklı olarak vaporizatörsüz kullanılabilir.^{2,12} Denek hayvanlarının bu ajan ile direk temasından kaçınmak için gerekli önlemler alınmalıdır.

İLAÇ DOZU VE UYGULAMA SIKLIĞI

İlaç dozları önerilen ortalama dozlarına göre uygulanmalıdır (Tablo 3).⁹ Anestetik ajanlar mutlaka titre edilerek verilmelidir. Denek hayvanında tam anestezi oluştuktan sonra cerrahiye başlanmalıdır. Perioperatif monitorizasyon IACUC protokolüne uygun olarak yapılmalıdır. Denek hayvanlarının vücut ısısı kendi doğal mekanlarındaki ısılarına uygun olarak sağlanmalıdır. Gerektiğinde verilecek ısıtılmış sıvılar (Ringer laktat, izotonik) ve vücut ısısının idamesi anestetik güvenirliliği de arttıracaktır.^{2,12}

HİPOTERMİK AJANLAR

Hipotermi yeni doğmuş ratlarda ve farelerde kabul edilebilir bir anestezi metodudur. Ancak uygun yenden ısıtma ve monitorizasyon koşulları sağlanmalıdır. On günlükten küçük kemirgenlerde buzlu suda tutma anestezi yöntemi olarak kullanılabilir. Bu koşullarda 5-10 dk içerisinde cerrahi işlem gerçekleştirilmelidir. Ancak bu yöntemle tüylü kemirgenlere anestezi verilemez. Mutlaka vermek gerekirse ek anestetik ajanlar kullanılmalıdır.²⁵⁻²⁷ Cerrahi prosedür tamamlandıktan sonra denek hayvanları 37 °C kadar ısıtılmalıdır.

TABLO 3: Ratlarda inhalasyon anestetik dozları.

İlaç	İndüksiyon
Nitröz oksit (N ₂ O)	Oksijen ile %60'a kadar
Halotan	%1-3, %5'e kadar
İzofluran	%1-3, %5'e kadar
Sevofluran	%2-4, %8'e kadar
Metoksifluran	Etki oluşana kadar (% saptanamamıştır)
Eter	Etki oluşana kadar (% saptanamamıştır)
CO ₂ /O ₂	%50/50 ile 80/20

AĞRI PALYASYONU

IACUC protokolüne göre denek hayvanlarında ağrının tam eliminasyonu mümkün olmayabilir ve istenmeyebilir. Buna göre; eğer bir prosedür insan için ağırlı olabilecek ise denek hayvanı için de ağırlı olacak demektir ve ağrı palyasyonu uygulanmalıdır. Tüm travmatik ve cerrahi prosedürler, çalışma protokolüne net bir aykırılığı olmadığı sürece uygun analjeziklerle profilaktik olarak tedavi edilmelidir. Ağrı tedavisi, eğer denek hayvanı yemek yeme, uyku ve diğer hayvanlarla iletişim gibi normal aktivitelerini yerine getirebiliyorsa başarılı sayılır. Ratlarda sık kullanılan analjezik ilaçlar ve dozları Tablo 4'te gösterilmiştir.⁹

Analjezi kullanılmasının uygun olmadığı durumlar;

Kullanılan analjezik ajanların çalışılan diğer ajanlarla uyumsuz olduğu durumlar,

Kontrol grubu hayvanlarda, çalışma protokolü gereği analjezik kullanılan durumlar,

Analjezik kullanılan hayvanlarda, daha önce literatürde verilen bilgilerle kıyaslanmanın zor olduğu durumlar.

İNHALASYON ANESTEZİSİ VE ÖTENAZİ

Halotan veya izofluran gibi bir volatil anestetik kullanıldığında, çevre sağlığı açısından atık gazların ortamdaki uzaklaştırılması için uygun koşullar sağlanmalıdır. Dietil eter etkili bir ajan olduğu halde yanıcı olmasından dolayı dikkatle uygulanmalıdır. Eterin muköz membranlara iritan özelliği aşırı sekresyon artışına neden olur. Buharlaştığında yanıcı ve patlayıcıdır; ötenazi sonrasında patlama olmaması için denek buzdolabı veya soğutucuya konularak saklanabilir. Daha sonra denek hayvanının yaşaması planlanan girişimlerde kullanılması uygun değildir.^{2,12,28} Kloroform; hepatotoksik ve karsinojen etkisinden dolayı ötenazi uygulanmayacak deneklerde kabul edilebilir bir ajan değildir. Kloroform kullanımı sonucunda zehirli fosgen gazı açığa çıkar. Bu gazın insanlar üzerine olan belirgin zararından dolayı uygulama esnasında maske ve eldiven ile korunma uygulanmalıdır. İşlem bittikten sonra da kloroform uygulanan denek hayvan-

TABLO 4: Ratlarda analjezik ilaçlar ve dozları.

İlaç	Doz (mg/kg)	Yol
Morfin	1.5 - 6	2-4 saat ara ile SC
Meperidin	2	İM
Buprenorphine	0.1 - 0.5	12 saat ara ile SC
Asetil salisilik asit	100 mg	4 saat ara ile PO

nı ve etraftaki malzemeler, ajanın tamamen buharlaşması için yaklaşık 1 saat kadar açık ortamda bırakılmalıdır.²⁸

ÖTENAZİ İÇİN KARBONDİOKSİT KULLANIMI

Kemirgen laboratuvar denek hayvanlarında karbondioksitin, düşük maliyeti ve güvenilirliği yönünden, ötenazi ve anestezi amaçlı kullanımı yaygındır.^{29,30} Karbondioksit ötenazi için silindirik tanklarda ba-

sıncılı olarak hazır bulunmaktadır. Karbondioksit uygulanacak denek hayvanı bilinçsizlik düzeyinin oluşması için %70 kadarı gazla doldurulmuş kapalı bir silindire konular, bu silindirden hayvan çıkarılmadan önce ölüp ölmediği kontrol edilmelidir. Hayvan ölmemiş ise karbondioksit narkozunu bir başka ötenazi metodu takip etmelidir. Karbondioksit narkozu sonrasında denek hayvanının muhakkak öldüğünden emin olmak gerekir.^{28,31,32}

Yüksek konsantrasyonlarda verilen karbondioksitin ağrı ve distrese sebep olmasından dolayı alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan birisi karbondioksit indüksiyonundan önce hayvanda bilinçsizliği sağlamak için bir anestetik ajanın kullanımıdır.³³ Bir diğer yöntem de tek başına karbondioksit yerine karbondioksit-Argon karışımının kullanılmasıdır. Denek sayısının az olduğu durumlarda dekapitasyon bir diğer alternatiftir.

KAYNAKLAR

- Havenaar R, Meijer JC, Morton DB, Ritskes-Hoitinga, Zwart P. Translator: Aydın C, Karahan S. [Biology, breeding, and sheltering of laboratory]. Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Chapter 3. In: Van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC, eds. Translator ed: İde T. 1st ed. Ankara: Medipress; 2003. p. 19-76.
- Bertens APMG, Fosse RT, van der Gulden WJI, Strik JTWA. Translator: Güleç B, Kozak O. [Anaesthesia, analgesia and euthenasia]. Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri. Chapter 3. In: Van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC, eds. Translator ed: İde T. 1st ed. Ankara: Medipress; 2003. p. 257-85.
- Cass JS, Campbell IR, Lange L. A guide to production, care and use of laboratory animals. An annotated bibliography. 4. Breeding programs: design and operation of production colony. Fed Proc 1963;22(2):95-102.
- Richardson CA, Flecknell PA. Anaesthesia and post-operative analgesia following experimental surgery in laboratory rodents: are we making progress? Altern Lab Anim 2005;33(2):119-27.
- Utkan T. [Biological and physical properties of experimental animals]. In: Cantürk NZ, Sayek İ, eds. Cerrahi Araştırma. 1st ed. İstanbul: Nobel Medical Press; 2005. p. 213-7.
- İde T, Karahan S. [Care, feeding and sheltering of experimental animals]. In: Cantürk NZ, Sayek İ, eds. Cerrahi Araştırma. 1st ed. İstanbul: Nobel Medical Press; 2005. p.219-37.
- Antunes LM, Roughan JV, Flecknell PA. Effects of different propofol infusion rates on EEG activity and AEP responses in rats. J Vet Pharmacol Ther 2003;26(5):369-76.
- Penderis J, Franklin RJ. Effects of pre- versus post-anaesthetic buprenorphine on propofol-anaesthetized rats. Vet Anaesth Analg 2005;32(5):256-60.
- Pitts M; Applied Research Ethics National Association/ Office of Laboratory Animal Welfare. Institutional Animal Care and Use Committee. A guide to the new ARENA/OLAW IACUC guidebook. Lab Anim (NY) 2002;31(9):40-2.
- Onbaşlar İ. [Anatomy of laboratory animals]. In: Cantürk NZ, Sayek İ, eds. Cerrahi Araştırma. 1st ed. İstanbul: Nobel Medical Press; 2005. p.189-211.
- Cantürk NZ. [Handling of experimental animals and approach techniques]. In: Cantürk NZ, Sayek İ, eds. Cerrahi Araştırma. 1st ed. İstanbul: Nobel Medical Press; 2005. p. 239-56.
- Cantürk NZ, Özdemir D. [Anaesthesia and analgesia practices in laboratory animals]. In: Cantürk NZ, Sayek İ, eds. 1st ed. İstanbul: Nobel Medical Press; 2005. p. 257-69.
- Avsaroglu H, van der Sar AS, van Lith HA, van Zutphen LF, Hellebrekers LJ. Differences in response to anaesthetics and analgesics between inbred rat strains. Lab Anim 2007; 41(3):337-44.
- Wixson SK, White WJ, Hughes HC Jr, Marshall WK, Lang CM. The effects of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam on noxious stimulus perception in adult male rats. Lab Anim Sci 1987;37(6):731-5.
- Sumitra M, Manikandan P, Rao KV, Nayeem M, Manohar BM, Puvanakrishnan R. Cardiorespiratory effects of diazepam-ketamine, xylazine-ketamine and thiopentone anesthesia in male Wistar rats--a comparative analysis. Life Sci 2004;75(15):1887-96.
- Hedenqvist P, Roughan JV, Antunes L, Orr H, Flecknell PA. Induction of anaesthesia with desflurane and isoflurane in the rabbit. Lab Anim 2001;35(2):172-9.
- Zhou JX, Luo NF, Liang XM, Liu J. The efficacy and safety of intravenous emulsified isoflurane in rats. Anesth Analg 2006; 102(1):129-34.
- Biber B, Johannesson G, Lennander O, Martner J, Sonander H, Werner O. Intravenous infusion of halothane dissolved in fat. Haemodynamic effects in dogs. Acta Anaesthesiol Scand 1984;28(4):385-9.
- Johannesson G, Alm P, Biber B, Lennander O, Werner O. Halothane dissolved in fat as an intravenous anaesthetic to rats. Acta Anaesthesiol Scand 1984;28(4):381-4.

20. Eger RP, MacLeod BA. Anaesthesia by intravenous emulsified isoflurane in mice. *Can J Anaesth* 1995;42(2):173-6.
21. Biber B, Martner J, Werner O. Halothane by the I.V. route in experimental animals. *Acta Anaesthesiol Scand* 1982;26(6):658-9.
22. Musser JB, Fontana JL, Mongan PD. The anesthetic and physiologic effects of an intravenous administration of a halothane lipid emulsion (5% vol/vol). *Anesth Analg* 1999;88(3):671-5.
23. Flecknell PA, Cruz IJ, Liles JH, Whelan G. Induction of anaesthesia with halothane and isoflurane in the rabbit: a comparison of the use of a face-mask or an anaesthetic chamber. *Lab Anim* 1996;30(1):67-74.
24. Goto T, Marota JJ, Crosby G. Nitrous oxide induces preemptive analgesia in the rat that is antagonized by halothane. *Anesthesiology* 1994;80(2):409-16.
25. Phifer CB, Terry LM. Use of hypothermia for general anesthesia in preweanling rodents. *Physiol Behav* 1986;38(6):887-90.
26. Danneman PJ, Mandrell TD. Evaluation of five agents/methods for anesthesia of neonatal rats. *Lab Anim Sci* 1997;47(4):386-95.
27. Silverman J. Hypothermia as anesthesia. *Lab Anim (NY)* 2008;37(3):105.
28. Yılmaz R. [Euthanasia]. In: Cantürk NZ, Sayek İ, eds. *Cerrahi Araştırma*. 1st ed. İstanbul: Nobel Medical Press; 2005. p.271-95.
29. Hackbarth H, Küppers N, Bohnet W. Euthanasia of rats with carbon dioxide--animal welfare aspects. *Lab Anim* 2000;34(1):91-6.
30. Conlee KM, Stephens ML, Rowan AN, King LA. Carbon dioxide for euthanasia: concerns regarding pain and distress, with special reference to mice and rats. *Lab Anim* 2005;39(2):137-61.
31. Danneman PJ, Stein S, Walshaw SO. Humane and practical implications of using carbon dioxide mixed with oxygen for anesthesia or euthanasia of rats. *Lab Anim Sci* 1997;47(4):376-85.
32. Hewett TA, Kovacs MS, Artwohl JE, Bennett BT. A comparison of euthanasia methods in rats, using carbon dioxide in prefilled and fixed flow rate filled chambers. *Lab Anim Sci* 1993;43(6):579-82.
33. Leach MC, Howell VA, Allan TF, Morton DB. Aversion to gaseous euthanasia agents in rats and mice. *Comp Med* 2002;52(3):249-57.