



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

“ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO TRAS LA ADMINISTRACIÓN
CRÓNICA DEL 2,2,2-TRIBROMOETANOL EN DOS ESPECIES;
RATA (*Rattus norvegicus*) Y RATÓN (*Mus musculus*)”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :
BEATRIZ OLIVARES BUENDIA



MÉXICO, D.F.

2008.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PROFESORES

Presidente

Prof. Elia Brosla Naranjo Rodríguez

Vocal

Prof. Ana María Vázquez Álvarez

Secretario

Prof. Ruth Bustamante García

1°. Suplente

Prof. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez


2°. Suplente

Prof. Martha Leticia Jiménez Pardo

Sitio donde se desarrollo el tema:


Bioterio 5°. Piso Edificio "A". Facultad de Química. UNAM

Asesor del Tema



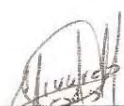
M. en C. Ruth Bustamante García

Supervisor Técnico



M.V.Z. José Ramírez Lezama

Sustentante



Beatriz Olivares Buendía

Agradecimientos

Mi sincero agradecimiento y cariño a mis asesores, por darme la oportunidad de realizar el trabajo de Tesis:

M. en C. Ruth Bustamante García

Dr. Atonatiu Edmundo Gómez Martínez

M.V.Z José Ramírez Lezama.

También agradezco su colaboración y tiempo prestado, para la revisión de esta tesis a las profesoras:

Dra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez

Dra. Ana María Vázquez Álvarez.

A todas la personas que colaboraron directamente en la elaboración del trabajo experimental que pertenecen al:

Dpto. de Patología de la Facultad de Veterinaria UNAM

Bioterio de la Facultad de Química UNAM.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme alojado durante mi estancia media superior y superior.

A mi mejor amiga Alejandra Buendía Torres por el amor, cariño y protección que me brindas, durante los instantes más significantes de mi vida. También por impulsarme en los momentos de adversidad, por ser una persona a quien admiro y respeto por el simple hecho de valorar la vida como tú solo lo sabes hacer, por la alegría que irradias todos los días, por tantas cosas que te quisiera agradecer.

A mi gran maestro Evaristo Olivares Ochoa por ser una parte esencial de mi vida, por enseñarme muchas cosas de actitud y aptitud, por ser una persona que me enseñó a no perder de vista los objetivos de la vida, gracias por enseñarme que la vida es una lucha constante y que vale la pena arriesgarse. Gracias por ser como eres porque a pesar de que no tengo muchas cualidades que tú tienes, se que me quieres y me amas y yo creo que es el momento adecuado para decirte que te amo y te quiero tanto.

A Ricardo Acevedo Acevedo, por ser mi compañero en toda la extensión de la palabra, gracias por todo este tiempo dedicado, y principalmente gracias por la comprensión y apoyo que me brindas para realizar mis sueños los entiendas o no, pero siempre terminas por ayudarme y apoyarme en todo momento, de verdad eres una persona de la que aun me falta mucho por aprender, ya que para ti no hay obstáculos, porque me enseñaste que el obstáculo más grande, es uno mismo; quiero decirte que estoy orgullosa de ti, porque por fin, el árbol que sembraste, hoy en día está dando frutos y te felicito por todos tus triunfos.

A Ricardo Acevedo Olivares porque la grandeza de la gente no se valora ni se mide por el gran tamaño, ya que tu aun siendo tan pequeño me enseñas día a día, que la vida puede ser tan corta y hay que valorarla y recibirla cada día con amor y alegría, y desde el día que llegaste a mi vida todo cambio por completo, por lo que estoy tan agradecida con dios por haberte puesto en mi camino, creo que el tiempo en el que hemos convivido no ha sido suficiente, pero quiero que sepas que este triunfo es por ti; principalmente es dedicado a ti, porque eres el motor de mi vida, y cuando estoy a punto de desistir solo me basta una mirada

tuya para no darme por vencida, gracias chaparrín te amo mucho, y quiero que sepas que todos mis triunfos son pensados en ti, todos mis triunfos tienen tu esencia. También quiero que sepas que la palabra te amo de verdad no expresa lo que de verdad siento por ti, porque su significado es muy limitado para lo que quisiera expresarte.

A mis grandes amigas Ale, Paty, Clau, (Flaca, Moqui y Cacahuata), créanme cuando llegué a esta parte después de llorar, me moría de risa perdón ya las balconee, saben la quiero muchísimo y somos como una fuerza sinérgica que unidas como siempre y como hasta ahora nada nos vencerá.

Ale gracias por ser mi compañera y amiga desde la infancia se me viene a la mente tantas travesuras compartidas. Gracias por orientarme en mis problemas familiares, sabes admiro mucho tu inteligencia, y la tranquilidad que tienes y transmites, y gracias por amar tanto a mi chaparrin.

No quisiera sentirme tal alejada de ti como ha ocurrido últimamente, ya que las circunstancias dificultan vernos aun mas, pero quiero que sepas que te amo.

Paty gracias por ser hoy en día una de mis grandes amigas yo se que a veces no importa la sabiduría de la gente, si no la sabe usar, yo se que tú tienes una cualidad importante que te caracteriza, que es la persistencia y de verdad admiro mucho tu interés por las cosas que desempeñas porque estoy segura que siendo como eres, llegaras a las metas que te has propuesto, y tengo que agradecerte muchas cosas creo que eres como mi segunda mama te amo.

Clau quisiera aprender tantas cosas de ti, por ejemplo a ser tan fuerte como tu eres, porque has enfrentado tantos problemas muchas veces sola, pero nunca desistes, y te quiero agradecer todo el apoyo que me brindas sabes que cuentas conmigo porque te quiero y te amo y cuídate mucho por fa.

A las familias Olivares Buendía y Buendia Torres, porque son una parte especial de mi vida ya que me han enseñado que la unidad familiar es el punto más importante para enfrentar todo tipo de problemas.

ÍNDICE:

TEMA:	PÁGINA
Lista de abreviaturas	8
Lista de tablas	10
Lista de figuras	11
CAPÍTULO 1	12
1 Introducción	12
CAPITULO 2	13
2 Generalidades	13
2.1 Historia de la anestesia veterinaria	13
2.1.1 Definición de anestesia general	14
2.1.2 Tipos de anestesia general	14
2.1.3 Fases y etapas de la anestesia general	16
2.1.4 Anestesia en roedores	18
2.1.4.1 Periodo preoperatorio en roedores	19
2.1.4.2 Periodo transoperatorio en roedores	20
2.1.4.2.1 Anestésicos generales utilizados en roedores	20
2.1.4.3 Periodo postoperatorio en roedores	23
2.2 El 2,2,2-Tribromoetanol	24
2.2.1 Historia	24

2.2.2	Características físico-químicas	24
2.2.3	Acción farmacológica	26
2.2.4	Uso del 2,2,2-Tribromoetanol en roedores y en otras especies	28
2.3	Métodos de ensayos toxicológicos en animales	30
2.3.1	Clasificación de los métodos de ensayo Toxicológicos	30
2.3.2	Ensayos de toxicidad general	31
2.3.2.1	Ensayos de toxicidad aguda	31
2.3.2.2	Ensayos de toxicidad subaguda	32
2.3.2.3	Ensayos de toxicidad subcrónica	32
2.3.2.4	Ensayos de toxicidad crónica	33
2.4	Ensayo histopatológico	33
2.5	Fisiología de roedores	34
CAPÍTULO 3		37
3	Objetivos	37
3.1	Objetivo General	37
3.2	Objetivo Particular	37
CAPÍTULO 4		38
4	Hipótesis	38
CAPÍTULO 5		39

5	Material y método	39
5.1	Material	39
5.2	Sujetos de experimentación	39
5.3	Metodología	40
5.3.1	Distribución de grupos experimentales	40
5.3.2	Procedimiento para la fijación del tejido	41
5.3.3	Procedimiento para el estudio histopatológico	41
5.4	Diagramas de flujo	43
5.4.1	Diagrama de flujo para rata	43
5.4.2	Diagrama de flujo para ratón	44
CAPÍTULO 6		45
6.	Resultados	45
6.1	Peso promedio en ratas evaluados durante el estudio	45
6.1.1	Evaluación macroscópica en ratas	46
6.1.2	Histopatología en ratas	47
6.2	Peso promedio en ratones evaluados durante el estudio	49
6.2.1	Evaluación macroscópica en ratones	50
6.2.2	Histopatología en ratones	51
CAPÍTULO 7		52
7.	Análisis de resultados	52
CAPÍTULO 8		56

8. Conclusiones	56
9. Bibliografía	57
Anexo 1	62

Lista de abreviaturas

ANADEVA	Análisis de varianza
AL	Anestésico local
CTRL	Control
°C	Grado centígrado
Br	Bromuro
BR ₂ CHCHO	Dibromoacetaldehído
DL50	Dosis letal 50
E.E.	Error estándar
IM	Intramuscular
IP	Intraperitoneal
HBr	Acido Bromhídrico
H ₂ O	Agua
IV	Intravenosa
min.	Minutos
mg	Miligramos
ml	Mililitro
mmHg	Milímetros de mercurio
SCPA	Sin cambios patológicos aparentes
SNC	Sistema nervioso central

TBE.	2,2,2-tribromoetanol
TGI	Tracto gastrointestinal
TRA	Tratamiento
VEH	Vehículo
vs.	Versus
α_2	Receptor adrenérgico alfa tipo 2
60's	Sesenta segundos

Lista de tablas	pagina
Tabla 1. Clasificación de la anestesia veterinaria según la zona anatómica implicada	15
Tabla 2. Clasificación de la anestesia veterinaria de acuerdo a su vía de administración	16
Tabla 3. Principales anestésicos generales inhalados utilizados en roedores (rata y ratón)	20
Tabla 4. Principales anestésicos generales inyectables utilizados en roedores (rata y ratón)	22
Tabla 5. Uso del 2,2,2-Tribromoetanol en roedores y otras especies	29
Tabla 6. Datos biológicos de Rata	35
Tabla 7. Datos biológicos de Ratón	36
Tabla 8. Peso promedio de ratas de los grupos experimentales (g) \pm E.E.	45
Tabla 9. Comparación macroscópica de ratas control, vehículo vs ratas tratadas	46
Tabla 10. Corte histológico de hígado de rata	47
Tabla 11. Corte histológico de músculo abdominal de rata	48
Tabla 12. Peso promedio de ratones de los grupos experimentales (g) \pm E.E.	49
Tabla 13. Comparación macroscópica de ratones control, vehículo vs ratones tratadas	50
Tabla 14. Corte histológico de hígado de ratón	51

Lista de figuras	Página
Figura 1. Estructura química del 2,2,2-tribromoetanol	25
Figura 3. Días de administración vs. peso promedio de ratas a lo largo del tratamiento	45
Figura 4. Días de administración vs. peso promedio de ratones a lo largo del tratamiento	49

CAPÍTULO 1

1 Introducción

El uso de sustancias con efecto anestésico en la investigación biomédica, es de suma importancia, ya que puede beneficiar o perjudicar el o los procesos experimentales en los cuales se requiere tener animales que se utilizan por más de una ocasión, por lo que es necesario la evaluación de los productos anestésicos. Cuando estas sustancias se administran crónicamente en animales de laboratorio, pueden producir tolerancia, efectos adversos, secundarios e incluso la muerte; provocando daños que pueden ser observados a nivel macroscópico y/o microscópico.

El 2,2,2-tribromoetanol, es un anestésico el cual presenta menos efectos colaterales y adversos administrados a dosis únicas, por lo que es ampliamente utilizado en otros países en animales de laboratorio (rata y ratón), encontrándose buenos resultados comparados con otros anestésicos utilizados, como el pentobarbital y la ketamina, en el cual el margen de seguridad son mucho menores.

Por lo que en el presente trabajo, se evaluó los daños inherentes a la aplicación del 2,2,2-tribromoetanol vía intraperitoneal a la dosis efectiva (250 mg/mL en ratones y 300 mg/mL en ratas) en la cual se obtuvo el proceso anestésico, administrándolo vía intraperitoneal de forma crónica, encontrando lesiones microscópicas principalmente en hígado; por lo que se concluye que este anestésico no es recomendable en experimentos en los cuales se requiere su uso en forma crónica.

CAPITULO 2

2 Generalidades

2.1 Historia de la anestesia veterinaria

Los orígenes de la anestesia veterinaria no están claros. Está documentado que en 1540 Paracelso administró éter a pollos (Seymour, 2001) y Henry Hill Hickman, dióxido de carbono a animales de experimentación, mostrando que aliviaba el dolor de la cirugía (Seymour, 2001 y Jones 1965); pero no fue hasta 1846 que la anestesia obtuvo atención pública, ya que en Boston, Morton demostró los efectos del éter en Humanos (Goodman & Gilman, 2003). Este anestésico era fácil de administrar y fácil de elaborar en su fase química pura por ser un líquido a temperatura ambiente y volatilizarse con facilidad; posteriormente se demostró que el éter era potente porque podían producir anestesia inmediatamente, causando algunas veces hipoxia. En Reino Unido se administró éter por primera vez en pacientes humanos (Goodman & Gilman, 2003). Un año después se empezó a utilizar en perros y gatos (Seymour, 2001).

El cloroformo fue introducido a el campo de la anestesia por el obstetra escocés James Simpson en 1847 (Seymour, 2001) haciéndose más popular que el éter en la anestesia veterinaria y médica gracias a su olor más agradable y por ser un anestésico no flamable, pero en la actualidad se conoce que es hepatotóxico y un depresor cardiovascular importante. A pesar de su incidencia alta de mortalidad, el cloroformo fue el anestésico más utilizado sobretodo en Inglaterra durante casi 100 años. Durante esta época la cantidad de actos operatorios y el alcance de la cirugía se incrementó. Aunque la incidencia de la mortalidad cambio poco, ya que las infecciones postoperatoria seguían siendo un problema (Seymour, 2001).

Antes de que la cocaína se utilizara como anestésico local, los anestésicos generales eran los más usados. La cocaína se dio a conocer como anestésico local gracias a Hobday, quien publicó el primer libro de anestesia veterinaria en 1915 (Plumb, 2006). A partir de entonces se propuso una legislación: el Acta de Anestesia Animal en 1919 (Seymour, 2001). En los años treinta hubo un desarrollo

considerable en la anestesia con barbitúricos, con el uso de pentobarbital y tiopental intravenoso, introducidos por Lundy (Plumb, 2006) que originalmente se le consideró útil como anestésico único, pero las dosis requeridas producían depresión grave del aparato circulatorio y de los sistemas nervioso y respiratorio. Los barbitúricos se popularizaron gracias al catedrático J. C. Wright (Goodman & Gilman, 2003). Durante ese tiempo, el doctor G.B. Brook realizaba sus trabajos en anestesia epidural (Plumb, 2006).

En los años cincuenta se produjeron avances considerables en la anestesia veterinaria, principalmente unidos a los desarrollos en anestesia en medicina humana. Por ejemplo, la intubación endotraqueal, los sistemas anestésicos cerrados, la introducción de agentes inhalados fluorados como el halotano y el isoflurano, y nuevos agentes inyectables como la ketamina y el propanol para la inducción de la anestesia. Un desarrollo específico de la anestesia veterinaria es la utilización de los fármacos α_2 -agonistas de los adrenerreceptores como es el caso de la Ketamina (Seymour, 2001).

2.1.1 Definición de anestesia

La palabra *anestesia* deriva del griego *άναισθησία*, que significa privación de la sensibilidad, insensible o sin sensación (Flecknell, 1998). Esta palabra fue introducida por Oliver Wendell Holmes para describir el proceso reversible de la depresión del sistema nervioso central (SNC) por un fármaco que produce inconsciencia y reducción o ausencia de la respuesta a los estímulos externos, de manera que el paciente no responde a ellos (Seymour, 2001).

2.1.2 Tipos de anestesia

Los anestésicos se pueden clasificar según su zona anatómica implicada en (Tabla 1):

1. Anestesia regional/local (Seymour, 2001):

Los anestésicos locales (AL) son fármacos que, aplicados en concentración suficiente en su lugar de acción, impiden la conducción de impulsos eléctricos por

las membranas del nervio y el músculo de forma transitoria y predecible, originando la pérdida de sensibilidad en una zona del cuerpo. (De Carlos, 1999)

2. Anestesia general (Tabla 1 y 2) (Seymour, 2001):

Podemos definir a la anestesia general como un estado transitorio, reversible, de depresión del sistema nervioso central (SNC) inducido por fármacos específicos y caracterizados por pérdida de la conciencia, de la sensibilidad, de la motilidad y de los reflejos. En este estado existe amnesia, inhibición de los reflejos sensoriales y autónomos, relajación del músculo (De Carlos, 1999 y Goodman & Gilman, 2003).

Tabla 1: Clasificación de la anestesia veterinaria según la zona anatómica implicada (Sumano, 2006)	
Local	<ol style="list-style-type: none">1. Por infiltración2. Por aplicación superficial3. Por bloqueo de una rama nerviosa en forma lineal
Regional	<ol style="list-style-type: none">1. Paravertebral2. Epidural3. Intratecal
General	<ol style="list-style-type: none">1. Por agentes inhalados2. Por agentes fijos3. Neuroleptoanalgesia4. Anestesia disociativa

Así mismo podemos tener una clasificación del tipo de anestesia de acuerdo a la vía de administración utilizada Tabla 2 (Plumb, 2006; Desmond ,1986 y Fuentes 1986).

Tabla 2: Clasificación de la anestesia veterinaria de acuerdo a su vía de administración (Plumb, 2006)	
Tipo	Vía de administración
Inyectable	<ol style="list-style-type: none"> 1. Intravenosa 2. Subcutánea 3. Intramuscular 4. Intrapertoneal 5. Intraósea
Inhaladas	<ol style="list-style-type: none"> 1. Parenteral (para mantener la anestesia)

Para fines de este trabajo se detallara el tema de anestesia general, ya que en roedores, el 2,2,2 tribromoetanol induce este tipo de anestesia (Flecknell, 1998).

2.1.3. Fases y etapas de la anestesia general

El periodo transoperatorio para la anestesia general se divide en tres fases: inducción, sostén y recuperación, cada una de las cuales tiene características especiales (Goodman & Gilman, 2003 y Plumb, 2006)

Fase de inducción:

Ocurre cuando un ser consciente pierde la conciencia mediante los efectos del anestésico ya que actúan en el SNC (Goodman & Gilman, 2003; Maluenda, 1977; Mayer, 1966).

La fase de inducción presenta cuatro etapas:

- Etapa I: Analgesia y movimiento voluntario

Se caracteriza por la inducción de un estado de analgesia, no apta para la cirugía. Si el anestésico es un gas, habrá forcejeo, chillidos, excitación y paro voluntario de la respiración, seguidos de inspiraciones profundas. La tensión induce liberación de catecolaminas, por lo que habrá aumento de la frecuencia cardiaca, midriasis y

expulsión de heces y orina. (Sumano, 2006 y Goodman & Gilman, 2003 y Katzung, 2005)

- Etapa II: Delirio y movimientos involuntarios

Se inicia al perderse la conciencia por acción del anestésico sobre la región cortical, el animal aún reacciona a estímulos fuertes del medio y manifiesta taquipnea e hiperventilación. Aún más por momentos se detiene voluntariamente la respiración. Las pupilas están dilatadas y existe aumento en la frecuencia cardiaca. Hay chillidos salivación y movimientos de deglución. (Sumano,2006; Goodman & Gilman, 2003 y Katzung, 2005)

- Etapa III: Anestesia quirúrgica:

Se caracteriza por inconsciencia por pérdida progresiva de los reflejos. Se acentúa la relajación muscular por la acción sobre los centros espinales y la respiración se torna más lenta y regular, aunque aún es controlada por la acción de los músculos intercostales y el diafragma. (Sumano 2006; Goodman & Gilman, 2003 y Katzung, 2005)

- Etapa IV: Depresión medular

Esta etapa incluye la depresión grave del centro vasomotor en la médula espinal y del centro respiratorio. Las mucosas están poco irrigadas y las pupilas muy dilatadas. Los esfínteres urinario y anal se relajan. Sin el apoyo circulatorio y respiratorio completo, rápidamente sobreviene la muerte. (Goodman & Gilman, 2003 y Katzung, 2005)

Fase de sostén:

En esta fase el tratamiento anestésico interactúa de modo constante con la fisiología general del paciente (Goodman & Gilman, 2003 y Uriarte, 2003).

Fase de recuperación:

Los anestésicos administrados se reducen de manera tal que expresan su farmacocinética específica. Tanto los fármacos inhalados como intravenosos pueden tener una farmacocinética retrasada a causa del tejido graso escasamente irrigado, o de carácter de la distribución y el metabolismo. Los factores principales que afectan la tasa de eliminación del anestésico son ventilación pulmonar, flujo sanguíneo y solubilidad en la sangre y tejidos. En razón del alto flujo sanguíneo cerebral, el anestésico en el cerebro principalmente los anestésicos inhalados, decrecen con rapidez (Goodman & Gilman, 2003 y Uriarte, 2003).

Los cambios fisiológicos que acompaña a la recuperación son hipertensión y taquicardia mientras el sistema nervioso simpático recobra su tonicidad y en tanto es estimulado por el dolor, a menudo hay escalofríos debido a la hipotermia.

Una vez descritas las fases y etapas de la anestesia general se dará una breve introducción de los anestésicos utilizados en las ratas y ratones ya que estos animales fueron los sujetos experimentales de este trabajo.

2.1.4 Anestesia en roedores

Cuando los roedores son utilizados para fines experimentales, el dolor debe ser abolido y reducido al mínimo, por lo tanto, el logro de la anestesia y analgesia es importante, ya que de la técnica anestésica, se pueden llegar a tener efectos adversos, que pueden interferir en la calidad de los resultados obtenidos en la experimentación animal (Flecknell 1998 y Mook, 2008).

Un efecto adverso es la muerte de los roedores ya que si hacemos una revisión de la mortalidad debida a procedimientos anestésicos tienen una incidencia de mortalidad y morbilidad significativamente más alta (3.5%) que los perros y gatos (0.23%). (Seymour, 2001).

Esto se debe a que existen varios problemas cuando se anestesia a roedores ya que están relacionados con diferentes factores como los que se mencionan a continuación:

- El pequeño peso corporal de estas especies, ya que su alta proporción entre el área de superficie y peso corporal las hacen particularmente susceptibles a hipotermias (Green, 1982).
- La administración intravenosa está limitada por el tamaño de las venas superficiales (Flecknell, 1998).
- La pequeña laringe hace difícil la intubación endotraqueal (Flecknell, 1998).
- Una de las consecuencias del tamaño, es que el volumen de los anestésicos pueden ser muy pequeños, por lo que en muchos casos se encontrarán inconvenientes para mezclar juntos los compuestos requeridos y diluirlos con agua estéril para la inyección. (Flecknell, 1998)
- La existencia de enfermedades previas que en algunos casos pueden presentar manifestaciones clínicas. Por ejemplo enfermedades respiratorias crónicas que es común en ratas y ratones (Seymour, 2001).
- Trastornos del tracto gastrointestinal relacionados con el estrés en el periodo postquirúrgico (Seymour, 2001).

2.1.4.1 Periodo preoperatorio en roedores

Para proporcionar la anestesia del nivel requerido en roedores es esencial realizar procedimientos preoperatorios adecuados antes de intentar anestesiarse a un animal. Unos buenos cuidados preoperatorios reducirán la incidencia de muchas de las complicaciones que pueden ocurrir durante la anestesia (Flecknell, 1998).

Por lo que antes de la selección de un método anestésico se debe hacer una evaluación integral del paciente; los factores que se toman en cuenta son:

- El estado físico del paciente: el uso de animales sanos es el factor individual más importante ya que puede reducir los riesgos asociados con la anestesia.

- La presencia de enfermedades: puede interferir en utilización, metabolismo, y eliminación de algunos anestésicos; en casos extremos puede inducir reacciones letales (Flecknell, 1998).
- La talla o tamaño y la especie: en animales obesos debe considerarse que su capacidad metabólica es equivalente a la de un animal esbelto, por lo que debe ajustarse la dosis (Muri, 1989).
- La edad: se sabe que el mayor porcentaje de viabilidad es en pacientes jóvenes (Muri, 1989).
- El sexo: hay diferencias poco considerables en la capacidad de metabolismo de ambos sexos aunque se dice que el metabolismo basal del macho es 7 % mayor que el de las hembras (Muri, 1989).
- Estrés ambiental y el manejo: el mal manejo de los animales puede ocasionarles tensión nerviosa intensa que puede inducir hipotensión en animales tranquilizados con la combinación de otros anestésicos (Flecknell, 1998).

En la parte experimental de este trabajo no fue necesario el uso de medicación pre-anestésica debido a que los animales utilizados (rata y ratón) son pequeños, de fácil manipulación y escasamente se requiere sedación previa.

2.1.4.2. Periodo transoperatorio en roedores

Para llevar a cabo intervenciones quirúrgicas en animales de laboratorio como en roedores, debe suprimirse por completo la percepción del dolor; esto puede lograrse mediante dos maneras fundamentales para llegar al estado anestésico requerido. La anestesia general por medio de anestésicos parenterales, inyectables o inhalados (Ortiz, 2003 y Harkness, 1995).

2.1.4.2.1 Anestésicos generales utilizados en roedores.

Se puede emplear anestésicos inhalados en roedores (Tabla 3), aun que los anestésicos más utilizados en roedores son los inyectables (Tabla 4), aunque el

pequeño tamaño corporal de los roedores hace difícil la inyección intravenosa y los fármacos se administran normalmente vía intraperitoneal o intramuscular. Si se utilizan estas vías, no es posible administrar el fármaco gradualmente según el efecto y el anestésico debe darse como una dosis única y calculada. Debido a la amplia variación en la respuesta a los fármacos entre diferentes líneas de ratas y ratones, entre animales machos y hembras y entre individuos, es mejor usar un fármaco que proporcione un amplio margen de seguridad. También, se pueden emplear (Ortiz, 2003 y Muri, 1989).

Tabla 3: Principales anestésicos generales inhalados utilizados en roedores (rata y ratón) (Ortiz 2003)			
Fármaco	Dosis	Vía	Observaciones
Halotano	3-4% en la inducción	Parenteral	Circuito abierto
	1-2% en mantenimiento		Inducción en jaula anestésica o con ketamina o tiletina- zolazepam
Isoflurano	3-4% en la inducción	Parenteral	**
	1-2% en mantenimiento		

* Se emplea la misma dosis en ratas y ratones

**No se tiene alguna observación

Tabla 4: Principales anestésicos generales inyectables utilizados en roedores (rata y ratón) (Ortiz 2003)

Fármaco	Dosis	Vía	Observaciones
Ketamina	50 mg/kg*	IM, IP	analgésia y miorelajación resultados inconstantes, utilizado como sedante
Ketamina+acepromazina	50-150+2.5-5 mg/kg*	IM	**
Ketamina-xilazina	Rata	IP	Buena analgesia anestesia
	90+5 mg/kg		
	Ratón		
	50-200+5-10 mg/kg		
Ketamina-diazepam	40-150+3-5 mg/kg*	IM,IP	**
Ketamina+medetomidina	75+0.01 mg/kg*	IM,IP	Buena miorelajación, anestesia quirúrgica en ratas
Tiletamina+zolazepam+xilacina	10-30+10 mg/kg*	IM,IP	**
Pentobarbital sódico	20-50 mg/kg*	IP	Dosis muy variable, margen de seguridad limitado , riesgo de hipotermia y depresión respiratoria
Tiopental	Rata	IP	Recuperación rápida anestesia quirúrgica en ratas
	20-40 mg/kg		
	Ratón		
	25-40 mg/kg		
Propofol	Rata	IV	Anestesia de corta duración recuperación rápida en ratones, anestesia quirúrgica en ratas
	10 mg/kg		
	Ratón		
	20-30 mg/kg		

* Se emplea la misma dosis en ratas y ratones

**No se tiene alguna observación

En pequeños mamíferos puede ser de vital importancia proporcionar una monitorización y un soporte continuo durante el periodo postoperatorio se debe establecer un área de recuperación de manera que se pueda estabilizar a una temperatura adecuada.

2.1.4.3 Periodo postoperatorio en roedores

En el periodo postoperatorio los pequeños mamíferos pueden presentar hipotermia hasta que no recuperen su actividad normal, de manera que, tras la operación, se debe mantener una temperatura controlada (Seymour, 2001 y Lumb 1963).

Es de importancia que los animales descansen en una cama confortable, el aserrín no es el adecuado. Para el periodo de recuperación inicial se debe proporcionar un estrado especializado como cama, y una vez que el animal ha recuperado su actividad normal, se le puede transferir a una cama que contenga material aislante ya que el animal podrá enterrarse; lo que le proporciona al animal calor y sensación de seguridad. (Flecknell, 1998 y Mayer, 1966).

Como se menciona anteriormente, existe una amplia gama de anestésicos empleados en animales de laboratorio aunque algunos de estos tiene efectos colaterales que pueden ocasionar incluso la muerte (Ortiz 2003); actualmente se está utilizando el 2,2,2 Tribromoetanol en dosis única como anestésico de elección en investigación biomédica, pero como a veces se requiere de anestésicos que puedan ser utilizados en forma crónica es necesario su estudio.

En México se está empezando a usar, por lo que es necesario evaluar y reevaluar su funcionalidad.

2.2 El 2,2,2-Tribromoetanol (TBE)

El nombre químico de este compuesto es el 2, 2, 2-Tribromoetanol.

También se le conoce como: β -Tribromoetanol; 2,2,2-Tribromoetanol; 2,2,2-Alcohol tribromoetílico; Avertin; Basibrol; Bromethol; Ethobrom; Ethobrome; NSC 2189; Narcolan; Narcotyl; Narkolan; Rectanol; Tribromoetanol.

2.2.1 Historia

Las características anestésicas del 2,2,2-tribromoetanol, habían sido descubiertas por el farmacólogo Fritz Eichholtz. Más tarde el cirujano Otto Butzengeiger de Wuppertal lo introdujo en práctica clínica en el año 1926. Este fármaco fue usado ampliamente debido a sus buenas cualidades anestésicas, a sus efectos ansiolíticos y porque no causó al parecer ningún problema. Se usó hasta principios de los años 60 en humanos. (Goerig, 2002, Chari 2001, Emerson 1942).

Se empleaba como anestésico de base en humanos, se administraba por vía rectal y para completar la anestesia quirúrgica se administraba el óxido nítrico, éter o ciclopropano, por lo que en su conjunto con el TBE reducía la cantidad de estos anestésicos volátiles. Después del proceso anestésico había dolor de cabeza náuseas, y malestar que duraba uno o dos días; el vómito no era frecuente. En humanos no se utiliza como anestésico general ya que el margen de seguridad entre la dosis tóxica y la anestesia es estrecha. También, se utilizaba para el control de la rigidez muscular, y para convulsiones del tétanos, al igual que en la eclampsia y estrés maniático (Litter 1959 y Sterz, 1981). Actualmente, este fármaco entró en desuso por los efectos adversos o colaterales, sin embargo, en Europa es ampliamente utilizado en roedores (Chari, 2001).

2.2.2 Características físico-químicas

El tribromoetanol es una sustancia sintética que deriva del alcohol etílico cuando se reemplazan tres átomos de hidrógeno por tres de bromo; esta introducción de halógenos aumenta la acción depresora sobre el SNC, tal como sucede en el caso del cloroformo (Howard, 1952).

El tribromoetanol está formado por tres átomos de bromo (Br) y un grupo alcohol, cuya estructura química se representa como sigue: (Figura 1).

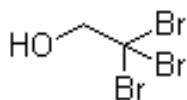


Figura 1. Estructura química del 2,2,2-tribromoetanol (www.sigmaaldrich.com)

Su fórmula empírica se representa: $C_2H_3Br_3O$, cuyo peso molecular es de 282.78 g/mol. (www.chemyq.com)

Es un polvo cristalino con un punto de fusión de 79 C° a 81 C° , con un ligero olor aromático; soluble en alcohol, cloroformo y éter (Litter 1959). Ligeramente soluble en agua 1:39 y la solución se descompone fácilmente, con la formación de dibromoacetaldeído y ácido bromhídrico que son irritantes a los tejidos. Las soluciones acuosas del tribromoetanol no deben calentarse por arriba de 40 C° ; y deben ser preparadas inmediatamente antes de su uso. Por estas razones el TBE se empleaba disuelto en hidrato de amileno que es un alcohol terciario, que también es un depresor del SNC y contribuye en menor medida con la acción del TBE. (Howard, 1952).

Se descompone en presencia de luz y con la humedad del aire por lo que se deben almacenar en contenedores herméticos y protegido de la luz (Jones, 1965). Las soluciones de TBE cuando son mal almacenadas, estas se descomponen principalmente en ácido bromhídrico (HBr) y dibromoacetaldehído (Br_2CHCHO), ambos productos son fuertemente irritantes.

En el caso del Ácido Bromhídrico (HBr), tenemos que es una sustancia corrosiva para los ojos, la piel y el tracto respiratorio. La inhalación del gas puede originar edema pulmonar. La evaporación rápida del líquido puede producir congelación (www.chemyq.com).

El Dibromoacetaldehído Br_2CHCHO , es una sustancia corrosiva y fuertemente irritante al contacto con tejido vivo (www.chemyq.com).

2.2.3 Acción farmacológica:

SNC:

El TBE produce una depresión del SNC, con una marcada acción en la médula semejante a los anestésicos generales e hipnóticos alifáticos. Cuando se administraba por vía rectal, el individuo se dormía en 10 o 15 min. Y se llegaba a la anestesia basal en 20 o 30 min., sin periodo de excitación y duraba alrededor de una hora, seguida de un sueño de varias horas; cabe mencionar que no se obtenía una buena relajación muscular. Con dosis altas se podía obtener anestesia quirúrgica completa, con relajación muscular, pero era peligrosa (Litter 1959).

Sistema cardiovascular

Sobre el corazón, en experimentos de perfusión en órgano aislado y en mamíferos intactos a dosis elevadas se descubrió que el tribromoetanol era un depresor. También, a dosis terapéutica la presión arterial descendía (unos 25 mmHg), en forma no peligrosa; esto se debe a la depresión del centro vasomotor y vasodilatación periférica (Litter 1959).

Respiración

El tribromoetanol deprime el centro respiratorio y a las dosis que producen anestesia quirúrgica existe el peligro de paro respiratorio, por lo que se le empleaba como anestesia basal, en cuyo caso la respiración también es deprimida pero en grado no peligroso. Dada esta depresión no se le utilizaba en conjunto con fármacos que potenciaran la acción de depresión respiratoria.(Litter 1959).

Hígado y riñón:

Como narcótico halogenado (semejante al cloroformo), el TBE puede causar daños a estos órganos parenquimatosos (Matthew, 2000). Así las altas dosis repetidas producen daño hepático pero no intenso y reversible. Con las dosis

usuales en mamíferos, se produce poca alteración en la función hepática, pero a dosis altas en personas sanas, jóvenes o enfermos hepáticos, es capaz de provocar lesiones, a veces graves llegando a ser letales.

En el riñón, el TBE es capaz de provocar albuminuria y empeorar la lesión renal si existía nefropatía previa. Como parte del fármaco se excreta por el riñón, la insuficiencia renal aumenta la toxicidad de la misma (Martindale, 1973 y Litter, 1959).

Absorción excreción

El TBE se empieza a absorber rápidamente pero irregularmente por la mucosa rectal; el 50% de la dosis administrada se adsorbe en 10 minutos, este es conjugado con el ácido glucorónico en el hígado y es eliminado completamente en la orina. Alrededor de dos horas después de la administración como tribromoetanol glicuronato (Lumb 1963).

El TBE se difunde a través de la placenta (Martindale, 1973).

Intoxicación:

Los accidentes de esta anestesia podían ser locales que se producían por descomposición del TBE, generalmente por temperaturas superiores a 40°C, con formación de dibromoacetaldeído y ácido bromhídrico, capaces de lesionar la mucosa. En la mucosa rectal causaba tenesmo y hemorragias. Los accidentes cardiovasculares consistían en una hipotensión arterial que podía ser peligrosa. Existían también accidentes respiratorios en donde la respiración artificial no eliminaba el anestésico como en los anestésicos volátiles por lo que este era el accidente más grave de esta anestesia. Los accidentes hepáticos y renales eran raros y consisten en la atrofia aguda amarilla del hígado con necrosis tóxica mortal (Thompson, 2002).

El tratamiento para la hipotensión consistía en la administración de efedrina o noradrenalina, el paro respiratorio se trataba por intubación traqueal y administración de oxígeno con respiración artificial y la administración de

pentilentetrazol y cafeína. La circulación se mantenía con infusiones de plasma o con soluciones electrolíticas o con metaraminol o metilamfetamina y se realizaba un enema evacuante para remover la droga que no se absorbía (Litter, 1959 y Reid, 1999).

Contraindicaciones

Estaba contraindicado en insuficiencia y daño hepático y/o renal, en las afecciones colorectales como inflamación, en las afecciones pulmonares avanzadas, en enfermedades cardíacas graves, en operaciones en el recto o ano, en individuos jóvenes y ancianos, en individuos con acidosis, anemia, sepsis, severo hipertiroidismo o tuberculosis.

Este no se administraba en conjunto con fármacos que deprimen el sistema respiratorio o con otro anestésico halogenado. La adrenalina no se administraba con el TBE porque era peligrosa en la fibrilación ventricular.

En humanos, las personas alcohólicas requerían dosis altas peligrosas para la anestesia basal.

En los años 60's en algunos hospitales ya era restringido su uso por:

Variabilidad de la respuesta, irritación rectal, periodo de inducción prolongado cuando un anestésico inhalado era usado como suplemento, efectos retardados, numerosas contraindicaciones, la imposibilidad de eficacia para remover el agente una vez que empezaban a ser evidentes los efectos tóxicos y por la depresión que causaba.

La difusión trasplacentaria también era un problema ya que el TBE es profundamente depresor del feto, y en los niños permanecía relativamente inactivo por arriba de 4 días después de su uso como anestesia basal (Martindale, 1973).

2.2.4 Uso del 2,2,2-Tribromoetanol en roedores y otras especies

El uso del 2,2,2-tribromoetanol como anestésico, ha sido utilizado en diferentes especies además del humano y roedores (Tabla 5).(Jones , 1965;Litter, 1959;Graham ,1964; Lumb, 1963; Lawrence 1971 y Flecknell 1998).

TABLA 5: USO DEL 2,2,2-TRIBROMOETANOL EN ROEDORES Y OTRAS ESPECIES

Especie	Solución	Dosis	Vía	Tipo anestesia	Comentarios
Gato	3%	300 mg/kg	Rectal	Basal	Sin comentario
Humano	2.50%	80 mg/kg	Rectal	Basal	El individuo se dormía en 10 o 15 min. Y se llegaba a la anestesia basal en 20 o 30 min., sin periodo de excitación y duraba alrededor de una hora, seguida de un sueño de varias horas
Tortuga terrestre	2 ml de TBE + 20 ml de ETOH al 10 %	10 ml/kg	Rectal e intraperitoneal	General	Anestésico utilizado para el transporte de tortugas terrestres
Perro	2 o 3 %	400-600 mg/kg	Rectal u oral	Basal	Es rápidamente absorbida, el principio de la narcosis después de la administración es después de 2, 3 min, alcanzando un pico a los 15 min y el efecto dura dos horas
Roedores	2.50%	250-300 mg/kg	Intraperitoneal	General	En ratón la dosis 250 mg /kg la. Para rata la dosis efectiva es 300 mg/kg. Para ambos la inducción requiere de 1-2 min. Y se recupera de 40 a 90 min

Efectos:

En roedores produce anestesia quirúrgica por vía intraperitoneal con una buena relajación muscular y con un moderado grado de depresión respiratoria (Flecknell 1998).

Efectos no deseados:

Tanto en ratas y ratones, el TBE irrita el peritoneo, además un mal almacenamiento de las soluciones acuosas del TBE puede causar irritación severa, adhesiones peritoneales y fibrosis alrededor de las vísceras abdominales y frecuentemente se encuentra la disfunción intestinal, esto sucede a causa de la descomposición del TBE que está en solución acuosa; sin embargo, el uso de soluciones acuosas recién preparadas de TBE contribuyen a una alta tasa de mortandad en ratones, si posteriormente se utiliza un segundo anestésico (Flecknell, 1998), sin embargo, se ha demostrado que la solución de TBE es irritante en ratas (Reid,1999).

Para poder realizar el estudio del Tribromoetanol a través de una administración crónica fue necesario utilizar los métodos de ensayo toxicológicos.

2.3 Métodos de ensayos toxicológicos en animales

Los métodos de evaluación toxicológica en animales tienen como objetivo hacer un estudio preclínico tras la administración de una sustancia de interés, para observar los efectos de estas sustancias en animales de laboratorio, ya que si son suficientemente fidedignos, pueden aplicarse a la toxicidad de seres humanos (Goodman & Gilman, 2003).

2.3.1 Clasificación de los métodos de ensayo toxicológicos

Los métodos de ensayo toxicológico se dividen en:

- **Métodos de ensayo toxicológico generales:**

Son aquellos ensayos que están diseñados para evaluar los efectos globales de los compuestos sobre los animales de experimentación. Estos ensayos se designan como pruebas de toxicidad aguda, subcrónica y crónica. Los ensayos generales prolongados y crónicos no detectan todas las formas de toxicidad, pero pueden poner de manifiesto algunas toxicidades específicas (Loomis, 1982).

- **Métodos de ensayos de toxicidad específica :**

En este tipo de ensayos se requiere que se investigue en cuanto a ciertas toxicidades puntuales, y se inician estudios más detallados a fin de estimar el grado de seguridad al respecto. Por ejemplo: ensayos de potenciación, ensayos teratogénicos, ensayos de reproducción, etc. (Loomis, 1982).

A excepción de los ensayos de toxicidad aguda, la mayoría de los ensayos se lleva a cabo con el objeto de determinar la naturaleza de cualquier toxicidad que se pueda producir por dosis repetidas administradas a animales a lo largo de un amplio periodo de tiempo y para estimar el grado de seguridad de un material para el hombre (Loomis, 1982).

Para el fin de este trabajo únicamente se tomarán en cuenta los ensayos de toxicidad general.

2.3.2 Ensayos de toxicidad general

Los ensayos de toxicidad general se dividen en ensayos de toxicidad aguda, subaguda, subcrónica, crónica, que serán descritos a continuación.

2.3.2.1 Ensayos de toxicidad aguda

La toxicidad aguda es el ensayo por excelencia que se lleva a cabo en todas las sustancias químicas que tienen algún interés biológico. Consiste en administrar el compuesto a los animales en una ocasión. El objeto de este ensayo es determinar la sintomatología, morbilidad, signos de intoxicación y/o letargo que conciernen a la administración del compuesto en cuestión y su grado de letalidad para

determinar la dosis a la cual el 50 % de la población muere (DL 50) (Loomis, 1982 y Vernon 1998).

La DL 50 se calcula en dos especies de animales por dos vías de administración y se registra el número de animales que fallecen en un lapso de 14 días después de recibir una sola administración (Goodman & Gilman, 2003 y Klaassen 1991).

Algunos animales frecuentemente ocupados para este tipo de estudios son la rata y el ratón y el número de roedores a usar es de 50 a 60 animales (Klaassen 1991 y Baker 1980).

2.3.2.2 Ensayos de toxicidad subaguda

El objetivo de este ensayo es obtener la información de un toxico después de un periodo de repetidas administraciones de una sustancia, según el protocolo usual se dan de tres a cuatro dosificaciones (Clarke, 1975).

En ratas se ocupan 10 individuos por sexo y por dosis y en perros se dan tres dosis y se ocupan de tres a cuatro animales por sexo. La revisión histopatológica se realiza catorce días después del término de la administración (Clarke, 1975 y Frimer, 1973).

2.3.2.3 Ensayos de toxicidad subcrónica

Este estudio está diseñado para proporcionar datos sobre efectos tóxicos de un fármaco durante un periodo de tiempo. El periodo de tratamiento es usualmente de 30 a 90 días (Baker, 1980).

Además de la determinación de los afectos clínicos, también involucra una variedad de evaluaciones bioquímicas y patológicas, para proporcionar información adicional que puede ser usada para planificar el ensayo crónico a largo plazo (Baker, 1980; Loomis, 1982 y Plumlee 2003).

Los animales usados frecuentemente en este ensayo son alrededor de 15-20 ratas por sexo y tres diferentes dosis por una vía de administración (Baker, 1980; Pascoe, 1983 y Plumlee, 2003).

2.3.2.4 Ensayos de toxicidad crónica

La razón de llevar a cabo ensayos de toxicidad crónica en animales es, demostrar ausencia de toxicidad cuando las dosis implicadas representan un cierto nivel práctico, y la segunda es la evaluación del potencial carcinogénico de una sustancia. (Loomis, 1982 y Ecobichon, 1998). Para este tipo de ensayo la especie animal más utilizada es la rata, este tipo de protocolo experimental sugiere 60 ratas por cada género (sexo). Durante dos años (Baker, 1980 y Vernon,1998).

Para realizar los métodos de ensayos toxicológico en animales, se utilizan ensayos histopatológico, para evaluar el daño causado por el fármaco (Vernon,1998, Frimer, 1973).

2.4 Ensayo histopatológico

La histopatología estudia las células o tejidos lesionados o enfermos. Estos tejidos son estudiados por medio de los ensayos histopatológico que tienen como objetivo la visualización al microscopio óptico de ejemplos de lesiones de carácter general por medio de cortes de órganos preparados adecuadamente para poder efectuar el estudio de sus componentes “células y tejidos” (Prophet, 1995).

Una vez obtenido la pieza a analizar se realiza:

- Fijación: que tiene como objetivo conservar el material lo mas semejante posible a como se encontraba en el animal vivo. Preservarlo de la autólisis y putrefacción. Prepararlo ara su posterior tratamiento (Prophet, 1995).
- Marcha de inclusión: paso en donde se substituye el agua y le proporciona dureza y firmeza a la pieza paraqué pueda ser seccionada en cortes del orden de las 5 – 10 μm de grosor. El material de inclusión por lo general es parafina. Y en este paso está involucrada la :

Deshidratación: la parafina no es soluble en agua por lo que hay que eliminarla a través de pasos sucesivos por alcoholes de concentración creciente (Prophet, 1995).

Transparentación: por lo que la parafina no es soluble en alcohol hay que sustituirlo por un solvente adecuado como tolueno, xileno o acetona

Impregnación de parafina: se comienza con una parafina blanda que penetre con facilidad y que funde entre 53 y 55 °C y después se le aplica otra de mayor dureza que funde a 54- 56 °C y finalmente la pieza se termina de embeber con parafina que funde a 56- 58°C (Prophet, 1995).

- Cortes al micrótopo de parafina
- Coloración: tiene por objetivo aumentar el contraste entre sus diferentes estructuras. Existen tres maneras de teñir los cortes:

Técnicas generales o topográficas: permite realizar el estudio de los órganos y tejidos en su totalidad como la hematoxilina-eosina de Harris (Prophet, 1995). La hematoxilina es un colorante básico que tiñe a los núcleos (azul). La eosina es un colorante ácido que se utiliza para teñir el citoplasma (rojo)

Técnicas especiales: que pone de manifiesto alguno(s) componentes en particular

Técnicas histoquímicas: que permite la identificación y localización específica de sustancias al microscopio (Prophet, 1995 y Uria, 1996).

2.5 Fisiología de roedores

La rata ha sido utilizada en el laboratorio de experimentación, seguida del ratón, que durante años han servido para la adquisición de nuevos conocimientos de cualquier orden científico por ejemplo en los campos del trasplante, inmunología, genética básica, reproducción, oncología, comportamiento, envejecimiento, toxicología, bioquímica fisiología, bacteriología, virología, hematología, radiobiología, y farmacología esta última de gran interés en éste trabajo ya que el ratón ocupa un lugar preferente en los ensayos de toxicidad aguda y de que son fundamentales para evaluar los nuevos compuestos, en cuanto a sus posibles

efectos fisiológicos y potencial toxico; así como también la rata, que es el animal de elección en ensayos toxicológicos crónicos (Illera, 1991). En la tabla 6 y 7 se resumen los datos biológicos para rata y ratón

TABLA 6: Datos biológicos de rata. (Ortiz, 2003;Aspinall, 2004; Laber,1996 y Hrapkiewicz ,1998)	
Datos biológicos	Especificación
Género:	Rattus
Especie:	norvegicus
Familia:	Muridae
Orden:	Rodentia
Suborden:	Myomorpha
Peso corporal adulto:	
Macho	300 – 520g
Hembra	250 – 300g
Tiempo de vida:	2.5 – 3.5 años
Temperatura corporal:	35.9°C – 37.5°C
Frecuencia cardiaca:	250 – 450 pulsos/min
Frecuencia respiratoria:	70 – 115 reps/min
Consumo de comida:	5-6g / 100g / día
Consumo de agua:	10-12ml / 100g / día
Madurez sexual hembra y macho:	2 meses
Determinación de las fases del ciclo estral:	Frotis vaginal
Tipo de ciclo estral:	Poliéstrico continuo
Duración del ciclo estral	4 – 5 días
Período de gestación:	21 – 23 días
Tamaño de la camada:	6 – 12 animales
Edad al destete:	21 días
Volumen sanguíneo:	1.4- 2.8 ml
Número de cromosomas (diploide):	42

TABLA 7: Datos biológicos de ratón. (Ortiz, 2003;Aspinall, 2004; Laber,1996 Y Hrapkiewicz ,1998)

Datos biológicos	Especificación
Género:	Mus
Especie:	Musculus
Familia:	Muridae
Orden:	Rodentia
Suborden:	Myomorpha
Peso corporal adulto:	
Macho	20 – 40g
Hembra	25 – 40g
Tiempo de vida:	1.5 – 3 años
Temperatura corporal:	36.5°C – 38°C
Frecuencia cardiaca:	325 – 780 pulsos/min
Frecuencia respiratoria:	60 – 220 reps/min
Consumo de comida:	12-18g / 100g / día
Consumo de agua:	15ml / 100g / día
Madurez sexual hembra y macho:	1.5 meses
Determinación de las fases del ciclo estral:	Frotis vaginal
Tipo de ciclo estral:	Poliéstrico continuo
Duración del ciclo estral	4 – 5 días
Período de gestación:	19 – 21 días
Tamaño de la camada:	10 – 12 animales
Edad al destete:	21 – 28 días
Volumen sanguíneo:	17.5-35 ml
Número de cromosomas (diploide):	40

CAPÍTULO 3

2 Objetivos

1.1 Objetivo General

- Evaluar los daños ocasionados por el 2,2,2-tribromoetanol tras la administración crónica del TBE.

1.2 Objetivo Particular

- Evaluar los efectos con respecto al peso en 2 especies diferentes de roedores: *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*.
- Explorar los efectos macroscópicos del 2,2,2-Tribromoetanol en 2 especies diferentes de roedores: *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*.
- Determinar los daños histopatológicos principalmente en hígado tras la administración crónica del 2,2,2-tribromoetanol vía intraperitoneal a las dosis efectivas (250 mg/ml para ratón y 300 mg/ml para rata), mediante la administración crónica, en 2 especies diferentes de roedores: *Mus musculus* y *Rattus norvegicus*

CAPÍTULO 4

4 HIPÓTESIS

Si el 2,2,2-tribromoetanol, es un anestésico el cual presenta menos efectos colaterales o adversos, en animales de laboratorio a dosis únicas, comparado con otros anestésicos, entonces, se espera encontrar en el estudio histopatológico, una incidencia disminuida o ausencia de lesiones en hígado tras la administración crónica de este anestésico.

CAPÍTULO 5

5 Material y método

5.1 Material

A. Sustancias

- 2,2,2-Tribromoetanol, Pureza 96%. FLUKA.

B. Soluciones

- Solución Salina Isotónica 0.9%. BAXTER
- Etanol BAXTER
- Solución de TBE al 2%
- Formol al 10% BAXTER

C. Equipo de Curación

- Jeringas desechables (1 y 10 mL) de plástico con aguja de acero inoxidable calibre 25
- Estuche de disección

D. Equipo Fijo

- Balanza granataria (Toledo)
- Cronómetro
- Marcadores Indelebles
- Histoquinette (Sakura RH-12EP)
- Micrótopo (Leica RM-2125RT)

5.2 Sujetos de experimentación

Se utilizaron:

- Ratones macho jóvenes adultos de la especie *Mus musculus* cepa CFW dentro de un rango de peso de 20 a 28 g. Se proporcionó libre demanda de agua y alimento.(NOM-062-ZOO-1999)
- Ratas macho jóvenes adultos de la especie *Rattus norvegicus* cepa Wistar dentro de un rango de peso de 220 a 280 g. Se proporcionó libre demanda de agua y alimento. (NOM-062-ZOO-1999).

Los animales empleados en este experimento se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Química, Edificio "A", los cuales no se les había sometido a previa experimentación.

Se mantuvieron a condiciones de 12/12 luz oscuridad, temperatura ambiente y humedad relativa de 45%

La administración se realizó cada tercer día, durante un mes entre las 7:00 – 9:30 am. Se utilizó la vía de administración intraperitoneal; el TBE fue administrado a una dosis de 300 mg/kg y 250 mg/kg para ratas y ratones respectivamente (Lumb, 1963 y Flecknell 1998)Y el ETOH al 2% se administró a razón de 1ml/100g o 1ml/10g según fuera el caso de ratas o ratones

Cada grupo control, vehículo y tratamiento en ratas y ratones se seleccionó aleatoriamente con una n=8.

5.3 Metodología

5.3.1. Distribución de grupos experimentales.

Se seleccionó aleatoriamente tres grupos tanto de ratas como de ratones y se distribuyeron en cajas de acrílico los cuales fueron marcados como:

- Grupo control: animales íntegros
- Grupo vehículo:ETOH 2%
- Grupo tratamiento:TBE al 2%

CADA GRUPO SE MARCÓ Y SE PESO CADA TERCER DÍA, DESDE EL INICIO HASTA EL FINAL DE EXPERIMENTO.

Procedimiento para la administración de las soluciones:

- El grupo control de ratas o ratones únicamente se pesaron y marcaron cada tercer día durante un mes
- El grupo vehículo de ratas y ratones se administro 1ml/100g y 1ml/10g de ETOH al 2% respectivamente, cada tercer día durante un mes.
- Al grupo tratamiento de ratas se administro 300 mg/kg de TBE al 2% vía intraperitoneal cada tercer día durante un mes y se pesaron.
- Al grupo tratamiento de ratones se administro 250 mg/kg de TBE al 2% vía intraperitoneal cada tercer día.
- Al finalizar el tiempo de administración (día 30), se procedió a realizar la eutanasia y fijación y embalaje de los tejidos.

5.3.2 Procedimiento para la fijación de tejidos:

Una vez terminada la administración de las soluciones:

- Se realizo la eutanasia por dislocación cervical
- Posteriormente se realizó una examinación macroscópica post mortem a los diferentes órganos o tejidos .
- Los órganos de interés se fijaron con formol al 10 % la cual duró 15 días a temperatura de refrigeración (4°C).
- Para el estudio histopatológico se realizó para aquellos animales en los que se observó a nivel macroscopico mayor lesión.

5.3.3 Procedimiento para el estudio histopatológico (Prophet, 1995 y Uria, 1996):

- Se lavaron los tejidos con agua y se realizaron cortes a los diferentes órganos (hígado, riñón, músculo de la cavidad abdominal en donde se realizo la administración intraperitoneal.)

- La marcha de inclusión se realizó por medio del histoquinete que involucra la deshidratación del tejido por medio de alcoholes; el aclaramiento que se lleva a cabo por medio de solventes que solubilizan a la parafina; y posteriormente la infiltración de la parafina a los tejidos.

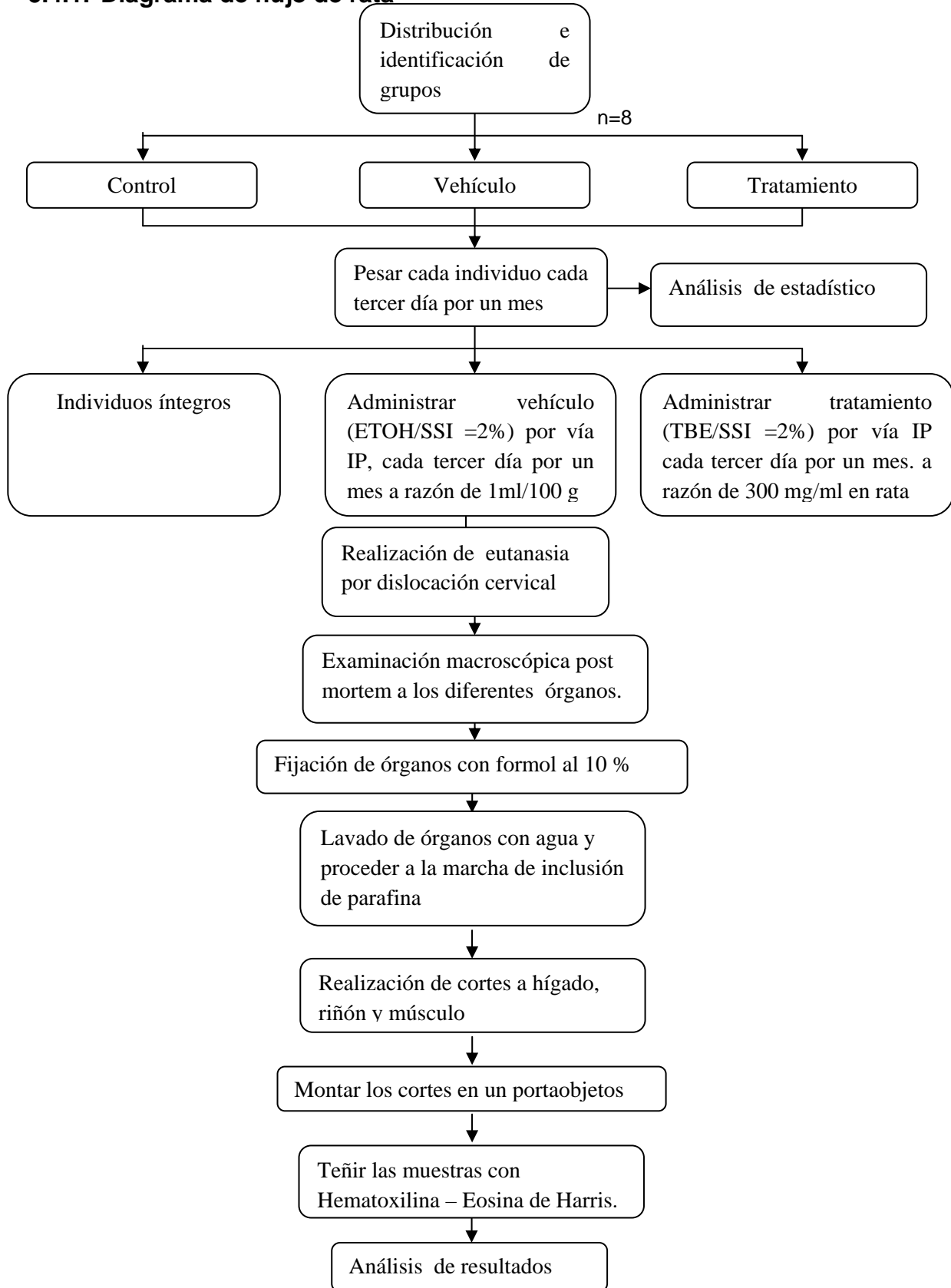
Se obtuvieron cortes de los tejidos embebidos en parafina por medio del micrótopo.

- Se montaron los cortes en un portaobjetos
- Posteriormente las laminillas se tiñeron con el procedimiento de hamatoxilina y eosina de Harris
- Por último se observaron los daños histopatológico en los tejidos de interés.

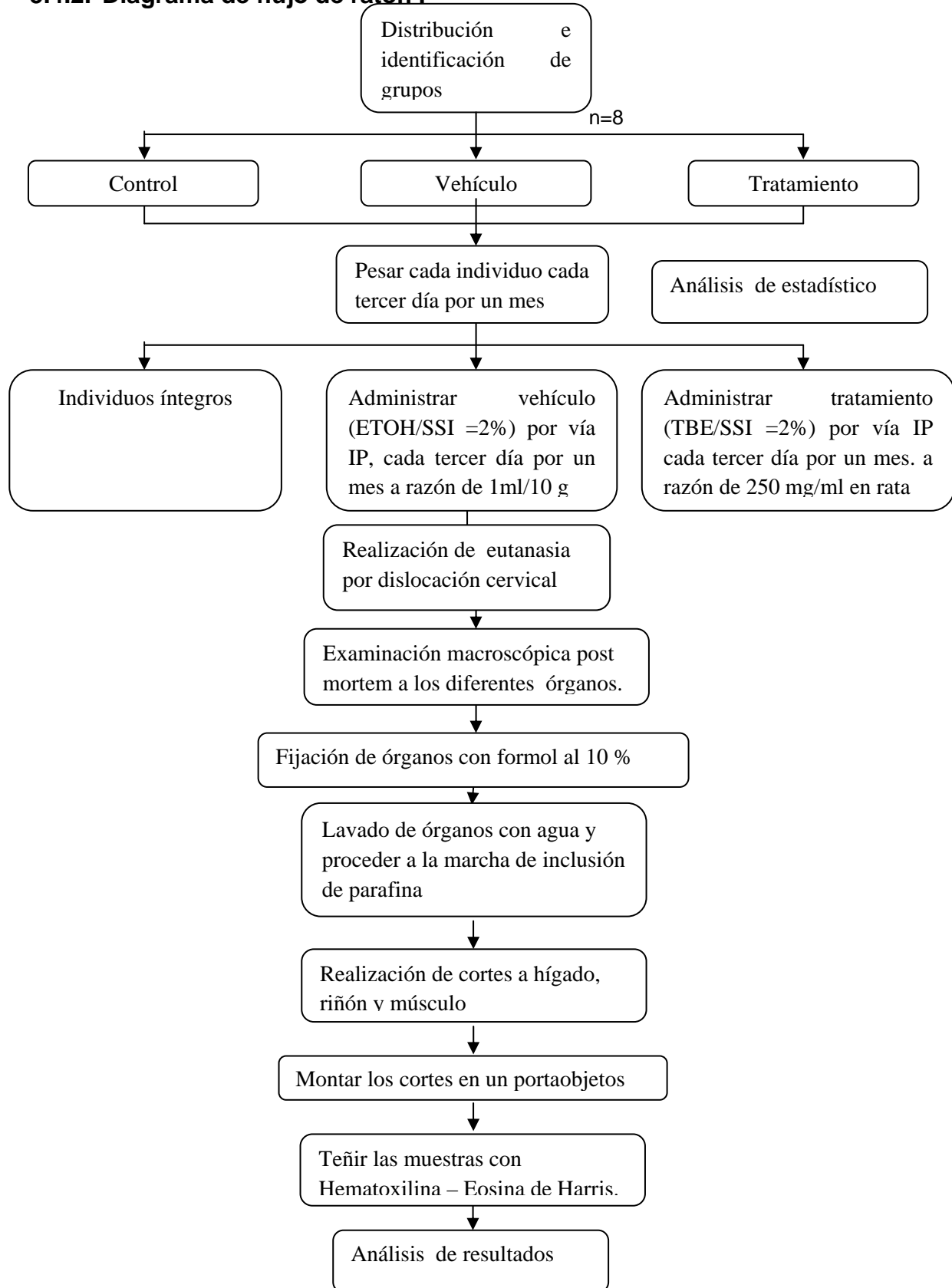
Los resultados obtenidos de peso se analizaron mediante una ANADEVa de una vía, con una $p < 0.05$, en donde hubo diferencias significativas se realizó una diferencia de medias mediante la prueba post-hoc de Duncan.

5.4 Diagramas de flujo del procedimiento experimental.

5.4.1. Diagrama de flujo de rata



5.4.2. Diagrama de flujo de ratón .



CAPITULO 6

6 RESULTADOS

6.1 Pesos promedio de rata evaluados durante el estudio

En la Tabla 8 y Figura 2 se muestran los pesos promedio de las ratas \pm E.E., obtenidos cada tercer día de los grupos experimentales evaluados, control (CTRL), vehículo (VEH), tratamiento (TRA), en donde se observa que las ratas control y ratas vehículo aumentaron de peso a lo largo del tratamiento pero el peso de las ratas tratadas con TBE disminuyó, siendo significativamente diferente en los días 26 y 28 (ANADEVA, $F=5.189$, $p<0.10$, prueba post-hoc Duncan)

TABLA 8. PESO PROMEDIO DE LAS RATAS EVALUADAS (g) \pm E.E. DONDE CTRL=CONTROL, VEH=VEHÍCULO Y TRA= TRATAMIENTO.															
DÍAS DE ADMINISTRACIÓN															
	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29
CTRL	249.5 \pm 8.3	258.2 \pm 10.5	269.6 \pm 9.7	287.4 \pm 11.1	309.1 \pm 11.3	300.2 \pm 13.5	286.9 \pm 13.0	305.9 \pm 14.4	319.2 \pm 14.7	310.7 \pm 13.3	334.2 \pm 13.6	354.4 \pm 15.3	354.3 \pm 21.4	365.7 \pm 26.0	363.6 \pm 20.3
VEH	285.1 \pm 17.6	300.1 \pm 22.5	293.3 \pm 10.0	296.6 \pm 10.2	312.9 \pm 10.8	320.5 \pm 10.4	315.7 \pm 10.0	327.1 \pm 11.4	336.2 \pm 11.6	326.3 \pm 11.7	349.1 \pm 12.9	352.4 \pm 12.5	362.9 \pm 12.9	364.7 \pm 13.4	368.8 \pm 13.7
TRA	261.3 \pm 18.4	259.9 \pm 23.4	256.9 \pm 9.8	264.2 \pm 9.7	268.3 \pm 9.8	269.4 \pm 9.5	276.8 \pm 12.5	277.7 \pm 12.6	278 \pm 10.7	272.7 \pm 10.6	283.2 \pm 14.7	289.4 \pm 13.2	298.7 \pm 12.4	126.6 \pm 13.1	105.8 \pm 12.9

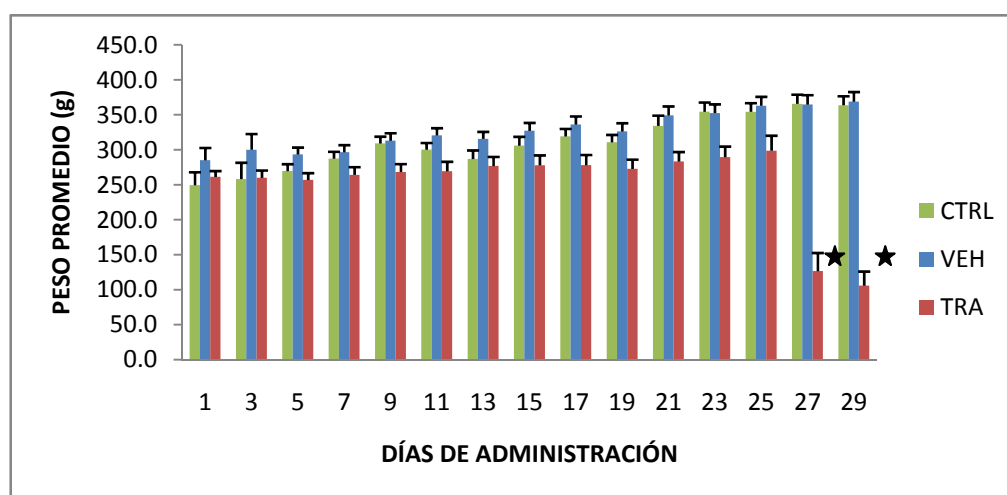
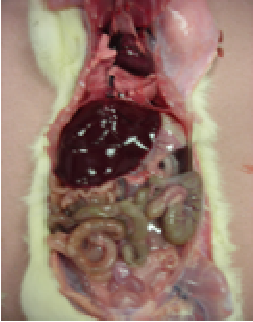
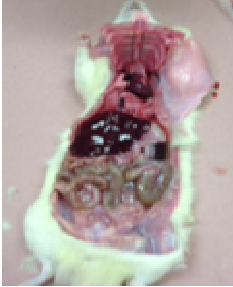

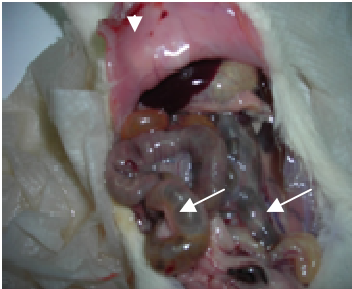


Figura 2: Días de administración vs. peso promedio de ratas a lo largo del tratamiento. Cada barra representa el peso promedio de ratas expresado en gramos en los diferentes días de administración \pm E.E. Donde CTRL: control, VEH: vehículo (Etoh/SSI =2%) y TRA: tratamiento (TBE), *existen diferencia significativas con $p<0.010$.

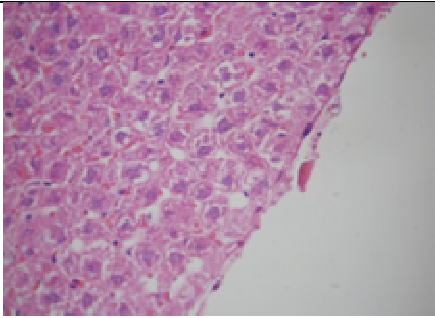
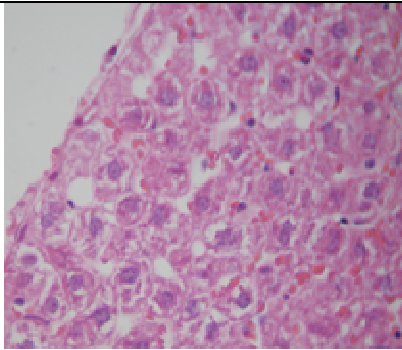
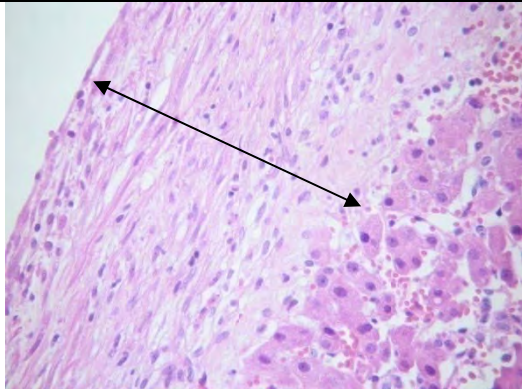
6.1.1 Evaluación macroscópica en ratas

En la Tabla 9 se observa que no hubo cambios aparentes en control y vehículo; sin embargo, en las ratas tratadas con TBE hay lesiones visibles principalmente en hígado, músculo, e intestino.

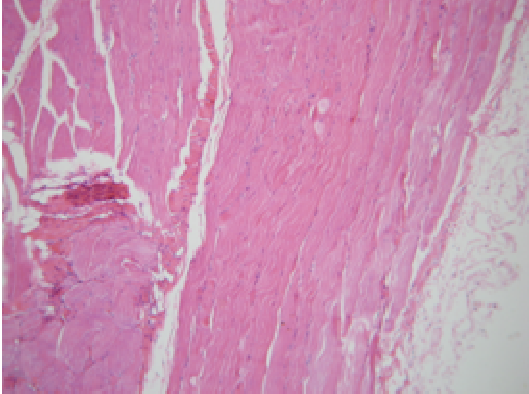
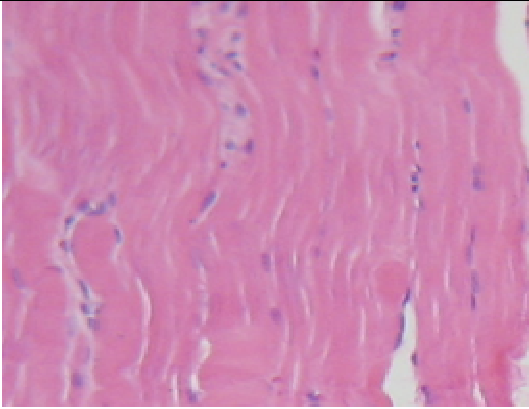
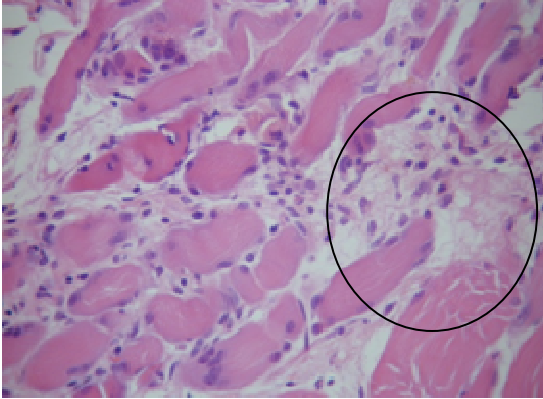
TABLA 9: COMPARACIÓN MACROSCÓPICA DE RATAS CONTROL Y VEHÍCULO CONTRA RATAS TRATADAS		
Tratamiento	Individuo	Observaciones
Control		Sin cambios macroscópicamente visibles
Vehículo ETOH 2%		Sin cambios macroscópicamente visibles
Tratamiento con TBE a 300 mg/ml	 	Adherencias en TGI Fibrosis : Músculo, hígado, riñon TGI, bazo. Músculo con zonas pseudohemoragicas Aire en la porcion intestinal Endurecimiento de intesinos

6.1.2 Histopatología en rata.

La Tabla 10 describe las lesiones microscópicas encontradas en hígado de rata tras la administración crónica del TBE; observando que el grupo a el cual se le administró este anestésico, tiene lesiones a nivel de la cápsula del hígado con respecto a el grupo control y vehículo

TABLA 10: CORTE HISTOLÓGICO DE HÍGADO DE RATA		
Tratamiento	Figura	Observaciones
Control		Sección de hígado sin cambios patológicos aparentes tinción H/E rata control 40x
Vehículo ETOH 2%		Sección de hígado sin cambios patológicos aparentes tinción H/E rata control 40x
Tratamiento con TBE a 300 mg/ml		Tinción H/E 40X Fibrosis capsular grave difusa y pequeños focos inflamatorios constituidos por linfocitos

La Tabla 11 describe las lesiones microscópicas encontradas en músculo de rata tras la administración crónica del TBE; observando que el grupo a el cual se le administró este anestésico, tiene fibrosis entre las fibras del músculo esquelético con respecto al grupo control y vehículo.

TABLA 11: CORTES HISTOLÓGICO DE MÚSCULO DE RATA		
Tratamiento	Figura	Observaciones
Control		Sección de músculo sin cambios patológicos aparentes tinción H/E
Vehículo ETOH 2%		Sección de músculo sin cambios patológicos aparentes tinción H/E
Tratamiento con TBE		Sección de músculo esquelético apreciándose área extensa de fibrosis entre las fibras de musculares y presencia de escasos macrófagos Miositis crónica grave difusa Mionecrosis discreta difusa

6.2 Peso promedio de ratones evaluados durante el estudio.

En la Tabla 12y Figura 3 se muestran los pesos promedio de ratones \pm E.E., obtenidos cada tercer día de los grupos experimentales evaluados, control (CTRL), vehículo (VEH) y tratamiento (TRA), en donde se puede observar que en el caso de los ratones del grupo control existe un aumento del peso a lo largo del experimento. Así mismo observamos que el vehículo no afecta el peso con forme transcurre el tiempo, en cambio para el tratamiento tenemos que permanece constante por ciertos periodos de tiempo. (ANADEVA , $F=12.997$ $p<0.001$, prueba post-hoc Duncan)

TABLA 12. PESO PROMEDIO DE RATONES DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES (G) \pm E.E.. DONDE CTRL=CONTROL, VEH=VEHÍCULO Y TRA= TRATAMIENTO.															
Grupo	Días de administración														
	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23	25	27	29
CTRL	23.6 \pm 0.9	25 \pm 0.8	26 \pm 0.8	26 \pm 0.8	27 \pm 1.0	27 \pm 1.0	28 \pm 1.0	29 \pm 1.0	29 \pm 1.1	30 \pm 1.2	30 \pm 1.2	31 \pm 1.1	32 \pm 1.2	32 \pm 1.3	33 \pm 1.2
VEH	23.7 \pm 1.0	25 \pm 1.2	25 \pm 0.9	27 \pm 0.7	27 \pm 0.7	27 \pm 0.6	28 \pm 0.8	28 \pm 0.7	29 \pm 0.7	29 \pm 0.7	28 \pm 0.6	28 \pm 0.7	29 \pm 0.6	29 \pm 0.9	29 \pm 0.8
TRA	25.2 \pm 0.7	25 \pm 0.6	25 \pm 0.7	25 \pm 0.8	25 \pm 0.7	25 \pm 0.7	26 \pm 0.6	26 \pm 0.4	25 \pm 1.1	25 \pm 1.2	27 \pm 0.2	27 \pm 0.3	28 \pm 0.7	29 \pm 0.5	29 \pm 0.8

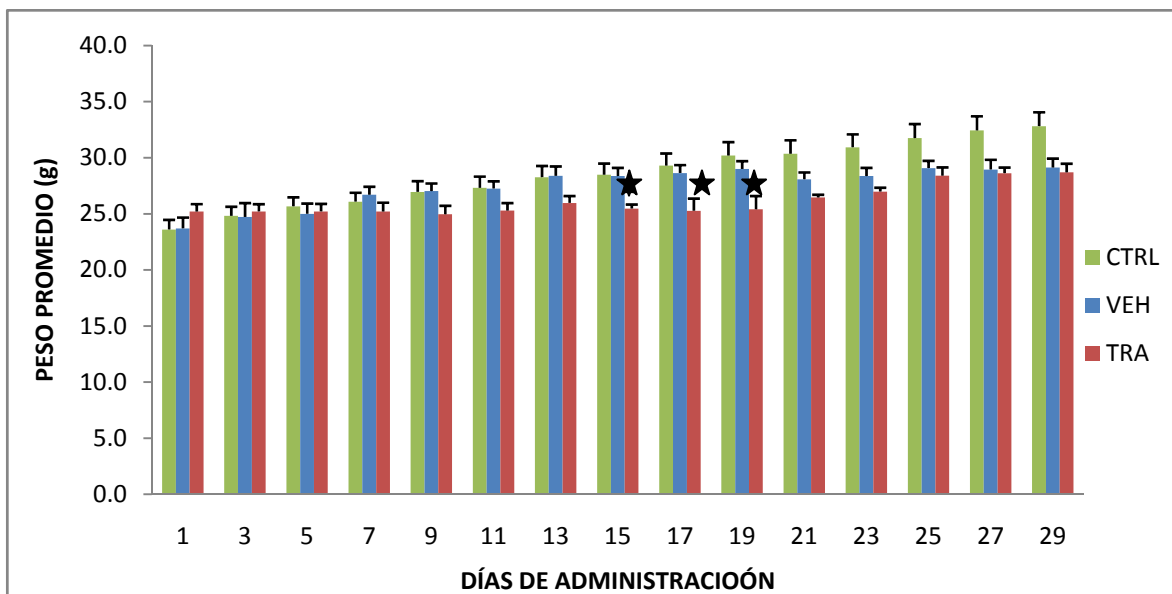
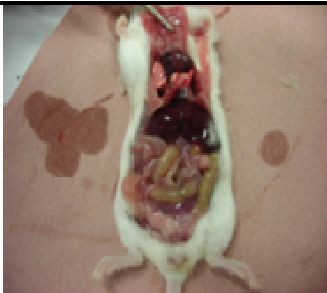




Figura 3: Días de administración vs. peso promedio de ratones a lo largo del tratamiento. Cada barra representa el peso promedio de ratones expresado en gramos en los diferentes días de administración \pm ES. Donde CTRL: control, VEH: vehículo (ETOH/SSI =2%) y TRA: tratamiento (TBE), * existe diferencia significativa de $P< (0.001)$

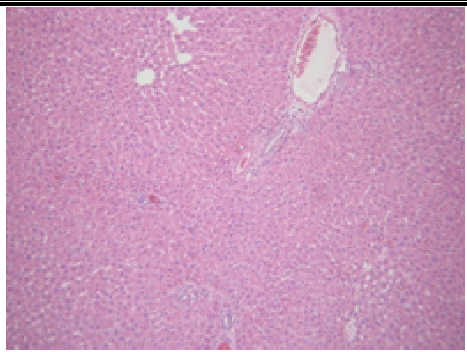
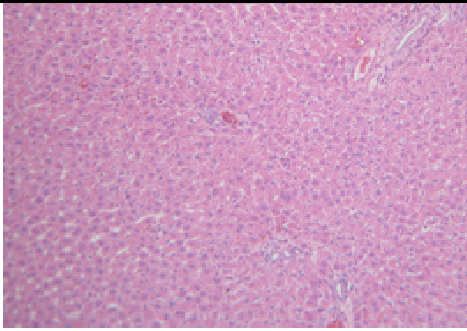
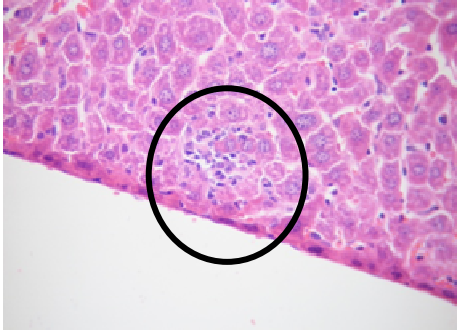
6.2.1 Evaluación macroscópica en ratones

Como se puede observar en la Tabla 13 no se encontraron cambios aparentes en el control y vehículo; sin embargo para las ratones tratadas con TBE hay lesiones visibles a nivel de hígado vejiga.

TABLA 13. COMPARACION MACROSCÓPICA DE RATONES CONTROL, VEHÍCULO VS RATONES TRATADOS		
Tratamiento	Individuo	Observacion
Control		Sin cambios macroscopicos visibles
Vehículo ETOH 2%		Sin cambios macroscopicos visibles
Tratamiento con TBE a 250 mg/kg		<p>Ictericia, en intestinos hepatomegalia</p> <p>Vegiga pletorica</p> <p>Vesícula seminales lesionadas</p> <p>Ascitis</p>

6.2.2 Histopatología en ratones

La Tabla 14 describe las lesiones microscópicas encontradas en hígado de ratón tras la administración crónica del TBE en donde se observan hiperplasia de conductos biliares, con respecto al control y vehículo.

TABLA 14: CORTES HISTOLÓGICO DE HÍGADO DE RATÓN		
Tratamiento	Figura	Observaciones
Control		Sección de hígado sin apreciables cambios histológicos. Tinción H/E
Vehículo ETOH 2%		Sección de hígado sin apreciables cambios histológicos. Tinción H/E
Tratamiento con TBE a 250 mg/kg		Sección de hígado apreciándose un foco de hiperplasia de conductos biliares. Tinción H/E

CAPÍTULO 7

7 Análisis de resultados

Uno de los factores para estar seguros de la salud de animales a los cuales se les somete a estudios de toxicidad crónica es el monitoreo de la masa o peso corporal; a partir de este factor se puede detectar algunos cambios generados por la toxicidad de fármacos, ya que la disminución de la masa corporal puede poner de manifiesto la condición de salud del individuo; por lo que éste factor se monitorea a lo largo del experimento (Ballantyne, 1999).

En el caso del grupo de las ratas a las cuales se les administro TBE, se observa una disminución significativa en la masa corporal. Esta disminución se le puede atribuir a :

* El estado de salud: ya que las ratas que murieron antes del tiempo propuesto para la administración crónica, iban decayendo disminuyendo su masa corporal, y al momento en que se les practicaba la necropsia se observaba pequeños focos localizados de fibrosis (Iñarritu, 2008).

* Consumo calórico: este factor es importante ya que depende de ingerir un exceso de energía o un bajo consumo de ésta. Las ratas que sobrevivieron durante el transcurso de la administración crónica del TBE aumentaban de peso, y no se mostraban renuentes a su alimento (Prophet, 1995 y Iñarritu, 2008).

*Factores metabólicos y genéticos: estos dependen de la variabilidad individual entre especie en cuanto a :

- La desviación preferente de los sustratos energéticos hacia la síntesis y el almacenamiento de los triglicéridos.
- El aumento en la eficiencia para degradar los hidratos de carbono, los ácidos grasos y los aminoácidos, y almacenar la energía adicional en forma de triglicéridos en el tejido adiposo.

- Una mayor eficiencia para efectuar el trabajo fisiológico, en la que se requiere menos energía, y el exceso de ésta se convierte en triglicéridos que se almacenan en el tejido graso.
- La inhibición en la movilización de la energía almacenada en forma de triglicéridos en el tejido adiposo (Iñarritu, 2008).

También se observó que la actividad física decreció en las ratas administradas crónicamente con TBE, además el pelo se mostraba hirsuto que es una manifestación en particular de ratas que están carentes de nutrientes o enfermas (Seymour 2001).

Una vez hecha necropsias se evaluaron macroscópicamente las lesiones y se encontró adherencias y fibrosis en algunos órganos de ratas, donde hubo mayor lesión en músculo, hígado, riñon TGI, bazo; lo cual concuerda con la información reportada por Chaya en el año 2007.

Es de importancia mencionar que las adherencias son generalmente tejido cicatrizado formado después de una intervención quirúrgica o se pueden formar a consecuencia de una inflamación como parte del proceso curativo del cuerpo. Por lo que el TBE es altamente irritante a dosis repetidas, el cual ocasiono inflamación severa, peritonitis, fibrosis pseudohemorragia y adherencias (Soybir, 1998; Herrick, 2000, Attard 2007 y Holmdahl, 1997).

Las adherencias son tejidos fibrosos dentro del cuerpo que unen piezas normalmente no conectadas como el caso de la ratas tratadas por TBE ya que se encontró uniones entre el intestino, hígado, vaso músculo etc, algunas de las consecuencias de estas lesiones depende de donde estén localizadas por ejemplo pueden tirar de los nervios o los órganos, causando dolor en el cuerpo mientras que el individuo se estira, ejercita, o aún, cuando respira, y un proceso quirúrgico posterior a la presencia de estas lesiones requeriría más cuidado (DiZerga, 1997 y Attard 2007).

También, se encontró la presencia de abundantes células inflamatorias constituida por macrófagos, además se visualizó mionecrosis discreta difusa, y miositis (DiZerega, 2007).

En el hígado de ratas microscópicamente se encontró fibrosis capsular grave difusa y pequeños focos inflamatorios constituidos por linfocitos que son lesiones generalmente encontradas en ensayos toxicológicos tras una administración crónica que desencadena un respuesta inflamatoria severa (Baker, 1980).

En el riñón de las ratas microscópicamente no se encontraron daños patológicos aparentes aunque macroscópicamente se visualizo presencia de fibrosis y adherencias.

Otra de las lesiones que causo el TBE fue el acumulo de materia fecal, esto se le puede atribuir a la fibrosis y adherencias que, impide la motilidad intestinal (Van 2007 y Herrick,2000).

En el caso del ratón, el peso corporal se vio poco afectado por la administración de TBE ya que el aumento del peso no incrementaba de manera significativa y además este permaneció constante por ciertos periodos de tiempo. El decremento del peso se le puede atribuir a los mismos factores que se mencionaron anteriormente en ratas.

En la evaluación macroscópicas, se observó presencia de ictericia en diferentes órganos y como ya se sabe la ictericia es consecuencia de un acumulo de bilirrubina que es un subproducto de la destrucción de los eritrocitos y esta pasa a la sangre, donde circula transportada por la albúmina. Después es captada por las células del hígado y penetra en su interior. Allí se transforma en bilirrubina conjugada mediante su unión con ácido glucurónico y luego es eliminada mediante la bilis formada por el hígado. De este modo, siguiendo las vías biliares pasa al intestino, donde es transformada en urobilinógeno por las bacterias intestinales y eliminada con las heces, dándoles su color característico. Pero si hay demasiados glóbulos rojos que están saliendo de circulación para ser procesados por el hígado, se acumula un pigmento amarillo en el cuerpo y cuando hay suficiente

pigmento para ser visible, se presenta la ictericia como en el caso de los ratones. La ictericia puede ser causada por la presencia de demasiados glóbulos rojos fuera de circulación a consecuencia de:

- Una sobrecarga del hígado
- Dañado hepático
- Incapacidad para movilizar la bilirrubina procesada desde el hígado a través del tracto biliar hasta los intestinos (González, 2004).

Así mismo la ictericia en los ratones puede ser atribuida a una sobrecarga del hígado ya que el TBE se elimina en el hígado por glucoronización; es por esto que la eliminación de la bilirrubina que también es glucoronizada se vio afectada acumulándose en el cuerpo y generando ictericia.

También la ictericia se debe a el daño en el hígado en donde el TBE ocasión daño en los conductos biliares observándose un foco de hiperplasia y se sabe que esta respuesta del tejido hepático se presenta en lesiones crónicas donde ha existido muerte de los hepatocitos.

La hepatomegalia pudo ser originado por cinco mecanismos diferentes: inflamación, depósito excesivo, infiltración, congestión y obstrucción. Por lo que la Hepatomegalia fue mediada por el mecanismo severo de inflamación del TBE (Gázquez, 2004).

Por otro lado en la zona muscular donde fue administrado el TBE se encontró la presencia de ictericia y microscópicamente el tejido permaneció sin cambios patológicos aparentese.

El TBE es un anestésico que se utilizó a principios de los años veinte en humanos; en ese tiempo los experimentos realizados para poder conocer la farmacocinética y la farmacodinamia de cualquier fármaco estaba limitado por la carencia de técnicas y aparatos que se utilizan actualmente; pocos años después se descubrió que causaba bastantes estragos en humanos, por lo que su uso, empezó a ser limitado, causando un desinterés en su estudio , y a consecuencia de esto se conoce poca información del TBE, por lo que este trabajo tomo referencias bibliográficas literatura de los años 50's.

CAPÍTULO 8

7 Conclusiones

El 2,2,2-tribromoetanol causó daños histopatológico tanto en ratas como en ratones, tras su administración intraperitoneal crónica.

Las lesiones de mayor importancia en este estudio es la presencia de fibrosis y adherencias principalmente en los órganos mencionados de hígado, músculo, intestinos de las ratas.

La administración crónica de este compuesto afecta la calidad de vida de ratas así como también puede interferir en los resultados de estudios a largo plazo prolongado.

A largo plazo este compuesto puede causar ictericia en ratones

El estudio histopatológico reveló que existen diferencias marcadas en el tipo de lesiones entre las dos especies estudiadas.

9. Bibliografía :

1. ASPINALL, Victoria. Introduction to Veterinary Anatomy & Physiology: Anatomy and Physiology of Exotic Species. N.Y. Ed. Butterworth Heinemann. 2004. pp. 178-180.
2. Attard, J. P , Maclean A. R. Adhesive small bowel obstruction: epidemiology, biology and prevention. Can J Surg. 50 (4):291-300, Aug 2007.
3. BAKER, H.; WEISBROTH, S. The Laboratory Rat, Volume II: Research Applications. San diego. Ed. Academic Pr. 1980. pp. 104-118.
4. BALLANTYNE, B. General and applied toxicology. 2nd ed. EUA. Ed. Stockton Press. 1999. Vol. 1. pp. 1-66.
5. Chari Y. T., Burnett C.J, and Redfield M.M. Effects of avertin versus xylazine-ketamine anesthesia on cardiac function in normal mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 281: H1938–H1945, Julio 2001.
6. Chaya G., Simmons A.S., Mungal G.K., Wilson T.J., Sieve M. Effects of tribromoethanol-medetomidine combination on cycling and ovariectomized Sprague-Dawley rats. Lab animal. 36 (7):36-40, 2007.
7. CLARKE, E.G; CLARKE, M L. Veterinary toxicology. London. Ed. Bailliere tindall. 1975. pp. 4-8 y 137-138.
8. DE CARLOS J.M. y VIAMONTE M.A. Farmacología de los anestésicos locales. ANALES Sis San Navarra. 22 (Supl. 2): 11-18, abril 1999.
9. DESMOND, B. Principios de farmacología clínica veterinaria. Zaragoza. Ed. Acribia. 1986. pp. 88.
10. DiZerega, GS. Biochemical events in peritoneal tissue repair. Eur J Surg Suppl. (577):10-16, 1997.

11. ECOBICHON, D. J. The Basis of Toxicity Testing. 2nd ed. EUA. Ed. CRC. 1997. pp. 61-81.
12. Emerson G.A. and Morrison J.L. Distribution of exogenous bromine in cats after treatment with tribromoethano. J Pharmacol Exp Ther. (75):226-230, 1942.
13. FLECKNELL P. Anestesia de animales de laboratorio. España. Ed. Acribia. 1998. 296 p.
14. FRIMER, M. Farmacología y toxicología veterinaria. Zaragoza. Ed. Acribia. 1973. pp.58-59, 276.
15. FUENTES, V.O. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. México. Ed. Interamericana. 1981. pp. 40-58.
16. GAZQUEZ, A.; BLANCO, A. Tratado de histología veterinaria. Barcelona. Ed. Masson, 2004, 462 p.
17. GOODMAN & GILMAN. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10a ed. México .Ed McGraw-Hill. 2003. pp. 331-400.
18. GRAHAM-JONES, O. Small Animal Anaesthesia. First Edition. Oxford. Ed. Pergamon. 1964. pp. 72-108.
19. GOERIG, M. The Avertin Story, American Society of Anesthesiologists. (96): A1172, 2002.
20. GONZÁLEZ D. B. Técnicas y métodos de laboratorio clínico. 2a ed. Barcelona. Ed. Masson, 2004. pp.544.
21. GREEN, C.J. Laboratory animal handbook 8. Animal anesthesia. London Ed. Laboratory Animals Ltd. 1982.
22. HARKNESS J.E. The biology and medicine of rabbits and rodents 4 ed. Philadelphia. Ed Lea & Febiger, 1995. pp. 58-71.

23. Herrick S. E. , Mutsaers S. E. Human peritoneal adhesions are highly cellular, innervated, and vascularized. *Journal of pathology*. 192 (1):67-72, 2000.
24. Holmdahl L, Risberg B, Beck DE, Burns JW, Chegini N, diZerega GS. Adhesions: pathogenesis and prevention-panel discussion and summary. *Eur J Surg Suppl*. (577):56-62, 1997.
25. HOWARD M. E. *Modern Drug encyclopedia and therapeutic index*. N.Y. Ed. Drug publications INC. 1952. pp. 88.
26. HRAPKIEWICZ K.; *Clinical laboratory animal medicine*. 4ta.ed. Iowa. Blackwell. 1998. pp. 3-17.
27. ILLERA, M. M., *El ratón y la rata*. Madrid. Ed Universidad complutense, facultad de veterinaria. 1991. 127 p.
28. Iñarritu P. Periódico Mural OBESIDAD [En línea] Disponible: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/salud/periódico/obesidad/index.html> [2008].
29. JONES, L.M. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 3rd ed. Iowa. Ed. Press, Ames. 1965. pp. 539-542.
30. KATZUNG, B. G. *Farmacología*. 9a ed. México. Ed. Manual moderno, 2005. pp. 200-220.
31. KLAASSEN, C. D. *Casarett & Doull's Toxicology - The Basic Science of Poisons*, 4th ed. Ed. McGraw-Hill. 1991. 1275p.
32. LABER-LAIRD, K. Swindle M. y Flecknell P. *Handbook of Rodent and Rabbit Medicine*. 1ra ed. Tarrytown, new york. Ed. Pergamon. 1996.
33. LAWRENCE R. S. *Textbook of Veterinary Anesthesia*. Baltimore EUA. Ed. Williams & Wilkins company. 1971. pp. 146-147.
34. LITTER, M. *Farmacología*. 1ra ed. Buenos Aires. Ed. El Ateneo. 1959. pp. 171-177.

35. LOOMIS, T. A. Fundamentos de la Toxicología. 3a. ed. Zaragoza España Ed. Acribia. 1982.
36. LUMB, W. V. Anestesia veterinaria. México. Ed. Cecsca. 1963. pp. 20.
37. MALUENDA, P. D. Principios de farmacología clínica veterinaria. Zaragoza España. Ed Acribia. 1977. pp. 88.
38. MARTINDALE. The Extra Pharmacopoeia. 26th ed. London. Ed. The Pharmaceutical Press. 1973; pp 852-854.
39. Matthew, D. K. and Neil, L. H. The actions of ether, alcohol and alkane general anaesthetics on GABA_A and glycine receptors and the effects of TM2 and TM3 mutations. British Journal of Pharmacology. 129:731-743, 2000.
40. MAYER J. Veterinary pharmacology and therapeutics. EUA. Ed. Iowa state university press. 1966. pp. 201.
41. Mook, D. Anesthetic Management of Rodents and Rabbits [en línea] Disponible: <http://web.msm.edu/clar/AnestheticMgmtRodentsRabbits.pdf> [5 marzo 2008].
42. MURI W. Manula de anestesia veterinaria. España. Ed. Harcourt Brace. 1989. pp. 290-294, 93-95.
43. Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999)
44. Ortiz C. M.V.Z. Vanguardia veterinaria. México Ed. Antártida. (1): mayo, Junio 2003.
45. PASCOE, D. Toxicology (studies in biology). London. Ed. Hodder Arnold H&S. 1983. 64p.
46. PLUMLEE, K. H. Clinical Veterinary Toxicology, 1st ed. EUA. Ed. Elsevier Science Health Science Division. 2003. pp. 61-87.

47. PLUMB, D. Manual de farmacología veterinaria. 5a ed. Buenos Aires. Ed. Inter-Médica. 2006.
48. PROPHET, E. Métodos histotécnicos. Washington, d. c. Ed. American Registry of Pathology. 1995. 280 p.
49. Reid WC, Paige Carmichael K, Srinivas S, Bryant JL, Pathologic Changes Associated with Use of Tribromoethanol (Avertin) in the Sprague Dawley Rat, Comparative Medicine. 49(6):665-670, December 1999.
50. Sterz R, Hermes M, Peper K, Bradley RJ. Effects of halogenated derivatives of ethanol on the nicotine acetylcholine receptor Brain Res. Dec 28; 230(1-2):434-8. 1981.
51. SEYMOUR , Manual de anestesia y analgesia en pequeños animales. España. Ed. S. 2001. pp. 2-23.
52. Soybir, F., Köksoy, F. Effect of mangan desferrioxamin in the prevention of peritoneal adhesions J R Coll Surg. Edinb. 43, 26-28, February 1998.
53. SUMANO L. H. Farmacología veterinaria; 1 ed. México. Ed. McGraw Hill. 2006. pp. 665- 666.
54. Thompson JS, Brown SA, Khurdayan V. Early effects of tribromoethanol, ketamine/xylazine, pentobarbitol, and isoflurane anesthesia on hepatic and lymphoid tissue in ICR mice. Comp Med. 52(1):63-7, Feb 2002.
55. URIA G. E. Apuntes para el curso teórico practico de histopatológica animal; México. Instituto politécnico Nacional. 1996. pp. 25-55.
56. URIARTE, B.V. Farmacologia clínica. Mexico. Trillas. 2003. pp. 240- 280.
57. Van Goor H. Consequences and complications of peritoneal adhesions. Colorectal Dis. 9 Suppl 2: 25-34, Oct 2007.
58. VERNON K. Brown, Acute and Sub-acute Toxicology. 1st edition. N.Y. Ed. Academic Press. 1998. pp. 127-151.

59.2,2,2-Tribromoethanol [En línea] Disponible: <http://www.chemyq.com>-[2008].

60.2,2,2-Tribromoethanol [En línea] Disponible: [http:// www.sigmaaldrich.com
/catalog/search/ProductDetail/FLUKA/90710](http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/FLUKA/90710) [2008].

ANEXO 1

Procedimiento de hematoxilina y eosina de Harris

FIJACION: Formalina al 10%

SECCIONES: En parafina

SOLUCIONES:

ALCOHOL ACIDO AL 1%

AGUA AMONICAL

SOLUCION SATURADA DE CARBONATO DE LITIO

SOLUCION DE EOSINA FLOXINA

HEMATOXILINA DE HARRIS

Hematoxilina	5.0g
Etanol al 100%	50.0ml
Alumbre de potasio o de amonio	100.0g
Agua destilada.....	1000.0ml
Oxido rojo de mercurio.....	2.5 g

Disolver el alumbre en agua destilada con ayuda de calor

Disolver la hematoxilina en el alcohol

Combinar las dos soluciones y hervir la mezcla aproximadamente un minuto

Añadir el oxido de mercurio

PROCEDIMIENTO

1. Desparafine las laminas e hidrate hasta llegar al agua destilada
2. Tiñir en hematoxilina de Harris filtrada recientemente, de 6 a 15 minutos
3. Lavar en agua corriente de 2 a 5 minutos
4. Colocar las laminillas en una cámara que contenga alcohol acido al 1%
5. Lavar en agua corriente
6. Colocar las laminillas en una solución débil de agua amoniacal
7. Lavar
8. Colocar el etanol al 80 % por uno o dos minutos.
9. Contrastar con la solución de eosina –floxina por 2 minutos.
10. Deshidratar y aclarar a través de dos cambios de etanol al 95% cada uno, después etanol absoluto , posteriormente xileno por dos minutos en cada uno
11. Observar al microscopio