



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE MEDICINA**

**DEMOSTRACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL EFECTO PROTECTOR DEL
LICOPENO COMO ANTIOXIDANTE ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO
PRODUCIDO POR EL HERBICIDA PARAQUAT EN COBAYOS. CUENCA-
ECUADOR. 2014**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE MÉDICO**

**AUTORES: CHRISTIAN ALEJANDRO TORRES ARTEAGA
JAVIER DAVID TORRES NIETO
GALO ANDRÉS VERDUGO AVALOS**

DIRECTOR: DR. BOLIVAR EFRAÍN DELGADO VÁZQUEZ

ASESOR: DR. JORGE LUIS GARCIA ALVEAR

**CUENCA-ECUADOR
2014**

RESUMEN

Objetivos: Demostración histopatológica del efecto protector del licopeno como antioxidante ante el estrés oxidativo producido por el herbicida paraquat en cobayos.

Materiales y Método: Se realizó un estudio de tipo experimental en el cual se utilizaron 48 cobayos formando 4 grupos: 1 (control), 2 (licopeno), 3 (paraquat) y 4 (licopeno + paraquat). Se les administró vía orogástrica luego de haberse inducido sedación, solución salina, licopeno (100mg/kg) y paraquat (60mg/kg). Once días después se procedió al sacrificio y extracción de los pulmones para su análisis histopatológico. Las dosis de paraquat fueron establecidas tras la aplicación de un estudio piloto. Para el análisis de la información se utilizó el software estadístico SPSS v.19.

Resultados: Se encontró congestión vascular en la totalidad de los pulmones de los cobayos examinados (100%). En el grupo que recibió paraquat se evidenció la presencia de edema y fibrosis (66.7%). En el grupo que recibió licopeno además de paraquat presentó edema s en el 50% de los casos y no se registraron casos compatibles con fibrosis. La administración de licopeno en el grupo 4 (licopeno + paraquat) constituyó un efecto protector para el desarrollo de edema (RR: 0.5, IC: 0.22-0.78; RRR: 50%, IC: 0.12-0.72; NNT: 2 IC: 2-5), se puede establecer que la administración de licopeno previene la fibrosis pulmonar (RAR: 67%, IC: 0.40-0.93; NNT:2 IC:2-3).

Conclusiones: La administración de licopeno reduce el riesgo de desarrollo de fibrosis pulmonar y edema.

Se evidenció congestión vascular en todas las muestras examinadas siendo secundaria al método de sacrificio.

PALABRAS CLAVE: ANTIOXIDANTE, LICOPENO, ESTRÉS OXIDATIVO, RADICALES LIBRES, OXIDACIÓN, PARAQUAT, FIBROSIS PULMONAR, EDEMA, CUENCA-ECUADOR.

ABSTRACT

Objectives: histopathologic demonstration of the protective effect of lycopene as an antioxidant against oxidative stress caused by the herbicide paraquat in guinea pigs.

Materials and Methods: 1 (control), 2 (lycopene), 3 (paraquat) and 4 (lycopene + paraquat): An experimental study in which 48 guinea pigs were used to form 4 groups was conducted. Orogastric route were administered after having induced sedation, saline, lycopene (100 mg / kg), and paraquat (60 mg / kg). Eleven days later proceeded to sacrifice and removal of the lungs for histopathological analysis. Paraquat doses were set after application of a pilot study. For data analysis SPSS v.19 statistical software was used.

Results: It was found vascular congestion in the lungs of all the tested guinea pigs (100%). In the group receiving paraquat the presence of edema and fibrosis (66.7%) was demonstrated. In the group receiving paraquat lycopene plus edema s presented in 50% of cases and not compatible with cases reported fibrosis. Administration of lycopene in group 4 (lycopene + paraquat) was a protective effect for the development of edema (RR: 0.5, CI: 0.22-0.78, RRR: 50% CI 0.12 to 0.72, NNT 2 CI 2 -5), can be established that the administration of lycopene prevents pulmonary fibrosis (RAR: 67% CI 0.40 to 0.93, NNT 2 CI 2-3).

Conclusions: The administration of lycopene reduces the risk of development of pulmonary fibrosis and edema.

Vascular congestion was observed in all samples tested to be secondary killing method.

KEYWORDS: ANTIOXIDANT, LYCOPENE, OXIDATIVE STRESS, FREE RADICALS, OXIDATION, PARAQUAT, PULMONARY FIBROSIS, EDEMA, CUENCA-ECUADOR.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	2
ABSTRACT.....	3
DEDICATORIA	13
CAPITULO I	17
INTRODUCCIÓN	17
1.1. Antecedentes	17
1.2. Planteamiento del problema.	18
1.3. Justificación	19
CAPITULO II	21
2. MARCO TEÓRICO	21
2.1 Estrés oxidativo	21
2.2 Radicales libres	21
2.3 Efecto nocivo de los radicales libres.....	23
2.4 Antioxidantes	24
2.5 Clasificación de los antioxidantes.....	24
2.6 Red antioxidante	25
2.7 Licopeno	25
2.8 Distribución del licopeno.....	26
2.9 Mecanismo de acción biológica del licopeno.....	26
2.10 Paraquat.....	27
2.11 Intoxicación por Paraquat.....	27
2.12 Distribución del Paraquat.....	27
2.13 Mecanismo Patogénico Oxidativo del Paraquat.....	28
2.14 Tratamiento ante intoxicación por Paraquat.....	28
2.15 Técnicas Histológicas.....	29
2.15.1 Toma de muestra	29
2.15.2 Fijación.....	29
2.15.3 Condiciones de un buen fijador	29
2.15.4 Inclusión	30
2.15.5 Microtomía (obtención de los cortes).....	30
2.15.6 Coloración o tinción	31
2.15.7 Montaje	31

2.15.8	Técnica para la tinción Hematoxilina-Eosina.	32
CAPITULO III		35
OBJETIVOS		35
3.1	Objetivo General	35
3.2	Objetivos Específicos	35
3.3	HIPÓTESIS.....	35
CAPITULO IV		36
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.		36
4.1	Tipo de estudio.....	36
4.2	Área de estudio	36
4.3	Universo y muestra	36
4.3.1	Criterios de inclusión.....	36
4.3.2	Criterios de exclusión.....	37
4.4	Variables y operacionalización.....	37
4.5	Métodos, técnicas e instrumentos.....	38
4.6	. Definición de grupos.....	38
	Grupos experimentales:	38
	Grupo control:	38
	Exposición:.....	38
	Cálculo de la dosis.....	39
4.7	Procedimientos.	39
4.8	Plan de tabulación y análisis.....	40
4.9	Consideraciones éticas.....	41
CAPITULO V		44
RESULTADOS Y ANÁLISIS		44
5.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.....	44
5.2	HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO CONTROL	44
5.3	HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO QUE RECIBIÓ LICOPENO	45
5.4	HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO QUE RECIBIÓ PARAQUAT	46
5.5	HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO QUE RECIBIÓ PARAQUAT + LICOPENO	46

5.6	PRESENCIA DE EDEMA PULMONAR EN COBAYOS A LOS QUE SE ADMINISTRÓ PARAQUAT + LICOPENO vs. PARAQUAT.....	47
5.7	PRESENCIA DE FIBROSIS PULMONAR EN COBAYOS A LOS QUE SE ADMINISTRÓ PARAQUAT + LICOPENO vs. PARAQUAT.	48
5.8	OTROS RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS	49
CAPITULO VI.....		59
DISCUSIÓN		59
CAPITULO VII.....		61
7.1	CONCLUSIONES	61
7.2	RECOMENDACIONES	63
7.3	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS		70
ANEXO 1		70
ANEXO 2		71
RESULTADOS DE LA PRUEBA PILOTO.....		73
ANEXO 3		79



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Yo, Christian Alejandro Torres Arteaga, autor de la tesis "DEMOSTRACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL EFECTO PROTECTOR DEL LICOPENO COMO ANTIOXIDANTE ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR EL HERBICIDA PARAQUAT EN COBAYOS. CUENCA-ECUADOR. 2014", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 06 de Octubre del 2014



Christian Alejandro Torres Arteaga

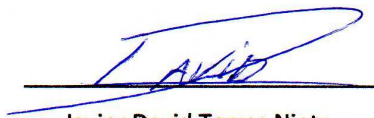
CI: 010499243-3



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Yo, Javier David Torres Nieto, autor de la tesis “DEMOSTRACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL EFECTO PROTECTOR DEL LICOPENO COMO ANTIOXIDANTE ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR EL HERBICIDA PARAQUAT EN COBAYOS. CUENCA-ECUADOR. 2014”, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 06 de Octubre del 2014



Javier David Torres Nieto.

CI: 010463544-6



Universidad de Cuenca
Clausula de derechos de autor

Yo, Galo Andrés Verdugo Avalos, autor de la tesis "DEMOSTRACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL EFECTO PROTECTOR DEL LICOPENO COMO ANTIOXIDANTE ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR EL HERBICIDA PARAQUAT EN COBAYOS. CUENCA-ECUADOR. 2014", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 06 de Octubre del 2014



Galo Andrés Verdugo Avalos
Ci: 010444413-8



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Yo, Christian Alejandro Torres Arteaga, autor de la tesis "DEMOSTRACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL EFECTO PROTECTOR DEL LICOPENO COMO ANTIOXIDANTE ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR EL HERBICIDA PARAQUAT EN COBAYOS. CUENCA-ECUADOR. 2014", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 06 de Octubre del 2014

Christian Alejandro Torres Arteaga

CI: 010499243-3



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Yo, Javier David Torres Nieto, autor de la tesis "DEMOSTRACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL EFECTO PROTECTOR DEL LICOPENO COMO ANTIOXIDANTE ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR EL HERBICIDA PARAQUAT EN COBAYOS. CUENCA-ECUADOR. 2014", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 06 de Octubre del 2014

Javier David Torres Nieto.

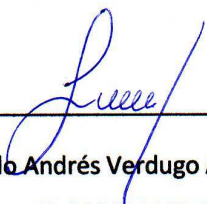
CI: 010463544-6



Universidad de Cuenca
Clausula de propiedad intelectual

Yo, Galo Andrés Verdugo Avalos, autor de la tesis “DEMOSTRACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL EFECTO PROTECTOR DEL LICOPENO COMO ANTIOXIDANTE ANTE EL ESTRÉS OXIDATIVO PRODUCIDO POR EL HERBICIDA PARAQUAT EN COBAYOS. CUENCA-ECUADOR. 2014”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 06 de Octubre del 2014



Galo Andrés Verdugo Avalos
Ci: 010444413-8

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis Padres quienes fueron un gran apoyo emocional durante este largo y arduo trayecto en que escribía esta tesis.

A mi novia Karla quien me apoyo y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mis maestros quienes nunca desistieron al enseñarme, a ellos que con paciencia y esmero continuaron depositando su esperanza en mí.

Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

CHRISTIAN

DEDICATORIA

Es mi deseo como sencillo gesto de agradecimiento, dedicarles esta obra de trabajo de grado en primera instancia a Dios, quien me dio la fortaleza, fe y salud para alcanzar este anhelo que se vuelve una realidad tangible, quien siempre estuvo a mi lado y me dotó de grandes dones y talentos que hoy puedo utilizar en mi vida.

Luego a mis padres quienes permanentemente me apoyaron con espíritu alentador, contribuyendo incondicionalmente a lograr las metas y objetivos propuestos.

DAVID.

DEDICATORIA

Dedico esta obra, que significa el esfuerzo de todos los años de estudio, a mis padres que me han dado la fortaleza para culminar este trabajo.

Además agradezco a cada uno de mis amigos y compañeros quienes me brindaron el apoyo fundamental para alcanzar una meta más en mi carrera.

GALO

AGRADECIMIENTO

Con el más profundo respeto y como homenaje de gratitud, al sacrificio, paciencia y por todo el tiempo y apoyo recibido de quienes fueron nuestros maestros Dr. Bolívar Delgado Vázquez y Dr. Jorge Luis García, y con la más sincera consideración a la Dra. Rocío Murillo, quienes hicieron posible la elaboración del presente trabajo de investigación, agradecemos sus meritorias indicaciones y consejos que nos han otorgado, los mismos que nos han servido para este presente, y de la misma manera lo será para nuestro buen desempeño desarrollo profesional.

LOS AUTORES

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

Los adelantos científicos y específicamente en la medicina son realmente sorprendentes tanto en el conocimiento de las enfermedades y su tratamiento como de sus complicaciones, no obstante quedan aún muchas dudas que aclarar con respecto al origen de estas. En los últimos 30 años viene desarrollándose cada día un interés mayor por los problemas relacionados con el estrés oxidativo, los radicales libres, las especies reactivas del oxígeno y los antioxidantes, todo esto dado por la importancia que poseen en la bioquímica, la biología y la medicina. (1)

En 1954 una investigadora argentina, Rebeca Gerschman, sugirió por primera vez que los radicales libres eran agentes tóxicos y generadores de enfermedades. El daño a biomoléculas que determinan los radicales libres se haya implicado en la génesis o exacerbación de numerosos procesos: Aparato cardiovascular: aterosclerosis, diabetes, cardiopatía alcohólica; Sistema neurológico: enfermedad de Parkinson, Alzheimer, neuropatía alcohólica, isquemia o infarto cerebral; Aparato ocular: cataratas, daño degenerativo de la retina, fibroplasia retrolental; Aparato respiratorio: síndrome de dificultad respiratoria del adulto, cáncer de pulmón; Riñón: síndrome autoinmune; entre otros. (2)

1.2. Planteamiento del problema.

Las ciencias médicas están enfocando en la actualidad parte de sus esfuerzos en encontrar estrategias eficaces para contrarrestar el daño producido por el efecto de los radicales libres a nivel de distintos órganos, esto debido a la gran incidencia en el daño que producen los mismos en la patogénesis de distintas enfermedades, razón por la cual se están planteado distintas soluciones para este problema, como lo es el uso de antioxidantes en la dieta, los cuales contrarrestan el estrés oxidativo (3). Debido a esto se busca comprobar la eficacia que tienen los antioxidantes, en nuestro caso, el uso del Licopeno para de esta manera disminuir o contrarrestar totalmente el daño provocado por los radicales libres.

1.3. Justificación

La necesidad de prever y comprender la relevancia de las enfermedades crónicas y de intervenir urgentemente contra ellas es una cuestión cada vez más importante. Para ello es preciso que los dirigentes nacionales que están en condiciones de reforzar las actividades de prevención y control de las enfermedades crónicas, así como la comunidad de salud pública internacional, adopten un nuevo enfoque. Como primer paso, es fundamental comunicar los conocimientos y la información más recientes y precisos a los profesionales sanitarios de atención directa y al público en general. (4)

En febrero del 2008 se celebró en Ginebra una Consulta Mixta OMS/FAO de Expertos en Régimen Alimentario, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas, dicha Consulta reconoció que la epidemia creciente de enfermedades crónicas que aqueja tanto a los países desarrollados como a los países en desarrollo está relacionada con los cambios de los hábitos alimentarios y del modo de vida, y emprendió la tarea de examinar los considerables progresos científicos sobre la determinación de la existencia de los diversos mecanismos que conducen a las enfermedades crónicas. (OMS/FAO 2008).

La pobreza crítica en que vive la mayoría de la población en nuestro país, y en Latinoamérica, impulsa al consumo de alimentos inadecuados en cuanto a su estructura alimenticia, como a su estructura material, puesto que por un lado, la industrialización de los alimentos, introducen en éstos productos químicos para su preservación, sabor, coloración, contextura; se ofrecen precocidos, suaves, de modo que van degenerando la capacidad biológica del sistema digestivo de metabolizar adecuadamente los componentes alimenticios.

Estos han dado como resultado una serie de degeneraciones fisiológicas, biológicas y hormonales que han incidido en la aparición de enfermedades crónicas y degenerativas, (MSP.2010) (5).

Hoy día el cáncer es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo, y en el mundo desarrollado sólo es superado en general por las Crónico Degenerativas. Se calcula que para finales del 2010 hubo unos 10 millones de casos nuevos y más de 6 millones de defunciones por cáncer (YACHI, 2010). (5)

A lo que queremos llegar con éstos antecedentes y nuestra investigación, es el demostrar histopatológicamente el efecto protector del licopeno como antioxidante en cobayos sometidos al estrés oxidativo, el mismo que lo conseguiremos con la administración a dosis crecientes del herbicida Paraquat.

Una vez obtenidos los resultados, estos serán diseminados a través de publicaciones en revistas médicas, y a su vez en bibliotecas virtuales y locales, de manera que la información pueda ser accesible a cualquier profesional, estudiante o cualquier persona que requiera de esta información, ya que como planteamos en esta investigación, los datos obtenidos serán relevantes para la formación.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Estrés oxidativo

De manera habitual, el oxígeno en el organismo se encuentra en su forma más estable (O_2), así el oxígeno es poco reactivo debido a su velocidad de reacción a temperatura fisiológica baja; sin embargo por reacciones puramente químicas, acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes se pueden producir una serie de especies químicas o sustancias prooxidantes (moléculas o radicales libres altamente reactivos) que son capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo que llegan a producir daño celular. Por lo anteriormente expuesto se comprende que, si bien el oxígeno es imprescindible para el metabolismo y las funciones del organismo, no se deben olvidar los muchos efectos tóxicos que posee.

El estrés oxidativo se da por la exposición de la materia viva a fuentes que producen la ruptura del equilibrio entre los factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes, ya sea por un déficit de estas o por una producción exagerada de la producción de especies reactivas del oxígeno.

2.2 Radicales libres

Desde el punto de vista químico son todas aquellas especies químicas, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo que les da una configuración espacial generadora gran inestabilidad. Son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en el que se forman y son difíciles de dosificar. Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas ubiquitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a

nivel microsomal y en los cloroplastos y, las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo) al interactuar con las principales biomoléculas del organismo.

A pesar de lo citado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis.

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son: Radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), Anión superóxido (O_2^-), Oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), Óxido nítrico (NO), Peróxido ($\text{ROO}\cdot$), Semiquinona ($\text{Q}\cdot$), Ozono.

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular. Entre las células relacionadas con la producción de radicales libres del oxígeno tenemos los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales. Entre las sustancias y agentes es conocida ampliamente la relación de los productos cíclicos de naturaleza redox como son el paraquat, diquat, alloxano, estreptozozina y doxorubicina, con los radicales libres. También se producen radicales libres por la administración de paracetamol, tetracloruro de carbono y furosemina; por último no se puede olvidar agentes como el humo de cigarrillos, las radiaciones ionizantes, la luz solar, el shock térmico y las sustancias que oxidan el glutatión (GSH) como fuentes de radicales libres. (1) Por lo tanto, el estrés oxidativo puede ser mejor definida como una interrupción de la señalización redox y control. La adopción de esa definición podría reorientar la investigación para identificar las perturbaciones importantes de la señalización redox, controlar y conducir a nuevos tratamientos para la enfermedad de procesos oxidativos relacionados con el estrés. (7)

Este desequilibrio producido por el estrés oxidativo trae como consecuencia alteraciones en la estructura y función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; convirtiéndose así en un mecanismo general génesis del daño celular pudiendo ser asociado con la fisiopatología primaria, la evolución de varias entidades y síndromes de interés médico, así como de las consecuencias de dichos eventos (1) (8).

Existen algunas circunstancias en que también se producen radicales libres como son:

- Dieta Hipercalórica.
- Dieta insuficiente en antioxidantes.
- Procesos inflamatorios y traumatismos.
- Fenómenos de isquemia y reperfusión.
- Ejercicio extenuante. (1)

2.3 Efecto nocivo de los radicales libres

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

Lípidos. Es aquí donde se produce el daño mayor en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular y se produce edema y muerte celular.

Proteínas. Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos.

Ácido desoxirribonucleico (ADN). Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes.

El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis). Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN. (1)

2.4 Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Los antioxidantes se encuentran contenidos en el olivo, ajo, arroz integral, café, coliflor, brócoli, jengibre, perejil, cebolla, cítricos, semolina, tomates, aceite de semilla de la vid, té, romero, entre otras muchas sustancias. También son parte importante constituyente de la leche materna.

Aunque las reacciones de oxidación son cruciales para la vida, también pueden ser perjudiciales; por lo tanto las plantas y los animales mantienen complejos sistemas de múltiples tipos de antioxidantes, tales como glutatión, vitamina C, y vitamina E, así como enzimas tales como la catalasa, superóxidodismutasa y varias peroxidasas. Los niveles bajos de antioxidantes o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células. (9)

2.5 Clasificación de los antioxidantes

Muchos de los antioxidantes son enzimas o nutrimentos esenciales, o incorporan nutrimentos esenciales en la estructura de sus moléculas, entendiendo como nutrimento esencial a aquel compuesto que debe ser

ingerido porque el organismo es incapaz de sintetizarlo. Esta característica es tomada por algunos autores para clasificarlos en antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos. No obstante, otro criterio de clasificación comúnmente empleado se basa en el mecanismo mediante el cual los antioxidantes ejercen su acción protectora, agrupándolos en aquellos que cumplen una función preventiva en la formación de los radicales libres y en aquellos que interceptan o capturan los que ya se han producido. También es posible clasificarlos conforme a su localización, ya sea en intra o extracelulares.

2.6 Red antioxidante

Para proveer el máximo de protección, los antioxidantes plasmáticos e intracelulares están armónicamente integrados para lograr la máxima supresión de las reacciones que generan radicales libres. Estos últimos se distribuyen preferentemente en los organelos que, por la intensidad de su actividad y su función metabólica, generan una mayor producción de radicales libres, localizados tanto en membranas como en el citosol. Un componente adicional en la red antioxidante son las proteínas de almacén y transporte de iones metálicos, cuya acción es secuestrar y limitar la exposición a los iones Fe^{+3} y Cu^{+2} , ya que su exceso promueve la generación de radicales libres. Las proteínas que cumplen esta función son: Ferritina, transferrina, lactoferrina, ceruloplasmina, haptoglobina, metalotioneína, hemopexina y carnosina. (10)

2.7 Licopeno

El licopeno es un carotenoide, principal pigmento responsable de la característica coloración roja del tomate (*Lycopersicon esculentum*) y sus productos derivados, y se sintetiza exclusivamente por plantas y microorganismos. (11)

Una de las fuentes principales es el tomate (80-90%), que es un producto básico considerado saludable por su bajo contenido en kilocalorías y grasa y

su contenido en fibra, proteínas, vitaminas E, A, C, y potasio y siendo utilizado en todo el mundo en diferentes presentaciones, ya sea crudo formando parte de ensaladas, como ingrediente en salsas, caldos y guisos o procesado en forma de salsas, purés, jugos o pasta. Otras fuentes importantes de licopeno son la sandía, la toronja rosada, la guayaba rosada, el pimiento rojo y la papaya. (13)

2.8 Distribución del licopeno.

La distribución del licopeno ocurre de la siguiente manera: una vez consumido, el licopeno es incorporado dentro de las micelas de los lípidos dietarios y absorbido en la mucosa intestinal por difusión pasiva, donde es incorporado a los quilomicrones y liberado al sistema linfático para ser transportado al hígado. El licopeno es transportado por las lipoproteínas dentro del plasma para la distribución a diferentes órganos. (15) Debido a su naturaleza lipofílica, también se encuentra en las fracciones de las lipoproteínas LDL y VLDL y no en las HDL en el suero. (11)

2.9 Mecanismo de acción biológica del licopeno.

A diferencia de otros carotenoides como la α - y β -caroteno, el licopeno no tiene actividad de pro vitamina A debido a que carece de la estructura de anillo γ -iónico común en estos carotenoides. Los efectos biológicos del licopeno en humanos se atribuyen a otros mecanismos de la vitamina A.

Al actuar como un antioxidante, puede atrapar especies reactivas de oxígeno (EROS) y reducir el estrés oxidativo y el peligro de oxidación de los componentes celulares, incluyendo lípidos, proteínas y ADN (16). Mientras el daño oxidativo de lípidos, proteínas y ADN está implicado en el desarrollo de las enfermedades crónicas, tales como las cardiovasculares, el cáncer y la osteoporosis, el licopeno actúa como potente antioxidante que puede reducir el riesgo de padecer estos padecimientos. (11)

Las EROS se producen endógenamente como producto del proceso metabólico normal, o de factores de la vida diaria como la dieta, el humo de

cigarro y el ejercicio. Los antioxidantes, en virtud de su habilidad de interactuar con las EROS, pueden mitigar este daño, por lo que juegan un papel importante en la prevención de las enfermedades crónicas. (11)

2.10 Paraquat.

El Paraquat es un herbicida biperidílico (1,1' dimetil-4,4' dipiridilo) muy ampliamente utilizado en el sector agrícola (18) ya sea para preparar la tierra para plantar o para un efectivo control de malas hierbas en más de 100 cultivos, entre ellos los principales cultivos alimentarios donde se aplica son : maíz, arroz, soja, trigo, papas o patatas; y las principales frutas: manzanas, naranjas, bananas; bebidas: café, té, chocolate y cultivos procesados: algodón, palma aceitera, caña de azúcar y caucho. (19)

Presenta pocos riesgos para la salud si se adoptan las precauciones adecuadas. Su intoxicación sin embargo es letal con muy pequeñas dosis del producto, llegando a mortalidad del 100% en algunas series. (18)

2.11 Intoxicación por Paraquat.

La mayoría de las intoxicaciones se producen por ingestión oral, pero pueden producirse por vía dérmica, aunque la absorción por esta vía es mínima a menos que se trate de una exposición muy prolongada con altas concentraciones; puede producirse intoxicación por inyección subcutánea o intravenosa. (18)

2.12 Distribución del Paraquat.

Tras la ingesta el pico plasmático máximo se produce entre la hora y las dos horas y descienden rápidamente debido a su amplia distribución por los tejidos, el pulmón es el principal órgano diana ya que se produce acúmulo selectivo del tóxico, llegando a producir fibrosis pulmonar de rápida instauración, son afectados también los riñones, miocardio y tejido cerebral, pudiendo producirse edema. La vida media del Paraquat es de aproximadamente 12 horas. (18)

2.13 Mecanismo Patogénico Oxidativo del Paraquat.

El pulmón es el principal órgano diana de esta sustancia y las lesiones que provoca en este órgano son las más graves siendo las responsables de la severidad del cuadro clínico y la gran mortalidad que produce. (20)

La penetración en el interior de la célula se realiza a través del sistema de transporte de poliaminas presente en los neumocitos alveolares y en las células endoteliales. Una vez que este herbicida entra en la célula, sufre una reducción de un electrón formándose el catión paraquat y un anión superóxido reactivo que es convertido en peróxido de hidrógeno por la enzima superóxidodismutasa. Tanto el anión superóxido como el peróxido de hidrógeno reaccionan con los lípidos de las membranas celulares formando hidroperóxidos lipídicos que reaccionan a su vez con otros lípidos de la membrana perpetuando así la acción destructiva. (20)

Aunque el edema pulmonar agudo y los daños al pulmón pueden ocurrir unas cuantas horas después la lesión tóxica retrasada de la fibrosis pulmonar, la causa usual de muerte, ocurre más comúnmente entre 7 a 14 días después de la ingestión. (21)

2.14 Tratamiento ante intoxicación por Paraquat.

No hay un tratamiento específico para la intoxicación con Paraquat. El objetivo es aliviar los síntomas y tratar las complicaciones (tratamiento complementario). (22)

El pronóstico depende de la gravedad de la exposición. Algunas personas afectadas pueden desarrollar síntomas leves relacionados con la respiración y recuperarse por completo, mientras que otros pueden experimentar cambios pulmonares permanentes. Si una persona ingiere el tóxico y no recibe atención médica inmediata, es probable que se presente la muerte. (22)

2.15 Técnicas Histológicas

2.15.1 Toma de muestra

La calidad y la fidelidad con que una célula o un tejido muestren una imagen al microscopio, con las características morfológicas que poseían cuando estaban con vida, dependen esencialmente de la prontitud y el cuidado que se aplicó para obtener la muestra a ser procesada mediante los pasos mencionados anteriormente. (22) En nuestro caso, nosotros tomamos las muestras a partir de la necropsia.

2.15.2 Fijación

Es el proceso mediante el cual los elementos constitutivos de las células, y por tanto de los tejidos, son fijados en cuanto a su estado físico, y parcialmente también en su estado químico, de manera que pueden resistir el tratamiento sucesivo con varios reactivos sin pérdida, distorsión importante o descomposición. (23)

2.15.3 Condiciones de un buen fijador

Una sustancia fijadora para que ejerza de manera eficiente y adecuada sus funciones debe poseer las siguientes condiciones:

- Matar inmediatamente a las células, impidiendo la aparición de los procesos autolíticos.
- Un buen poder de penetración, que en contados instantes se introduzca con rapidez en el espesor de la muestra.
- Un buen poder de difusión, que no fije sólo la porción superficial de la muestra sino que alcance las porciones más profundas de la misma.
- Producir cierta dureza a los tejidos sin que se provoque excesiva retracción o hacerlos quebradizos y friables.
- Debe de ser de fácil manipulación.
- No debe disolver componentes celulares.
- Que sea fácil de conseguir y que sea barato.

El formol o formalina está considerado como la sustancia fijadora de mayor uso en los laboratorios que realizan técnica histológica. El formol comercial consiste en una solución acuosa del gas formaldehído al 20%. Se presenta como un líquido claro, incoloro, que emite vapores sumamente irritantes para las conjuntivas y la mucosa respiratoria. Su acción fijadora se ejerce coagulando las proteínas.

Es un fijador que posee un buen poder de penetración y difusión. Mantiene de manera adecuada la estructura y facilita la coloración posterior de los componentes celulares y tisulares. Endurece bien las muestras. Conserva bastante bien a las grasas.

Se le emplea en una solución al 10% (10 del formol comercial y 90 partes de agua).

2.15.4 Inclusión

Los tejidos fijados adquieren cierta consistencia y dureza, pero no la suficiente para que, de ellos, se obtengan secciones delgadas. Estas secciones, del orden de algunas milésimas de milímetro (5 a 10 μm), se conseguirán cuando los tejidos se infiltren con sustancias denominadas “de inclusión” y adquieran tal dureza que sometidos al filo de una navaja produzcan secciones, cortes o láminas sumamente delgadas y transparentes; en nuestro estudio se utilizó parafina.

2.15.5 Microtomía (obtención de los cortes)

En esta etapa, los tejidos y la parafina integran un solo bloque que, posee la dureza y la consistencia suficientes para obtener secciones delgadas y transparentes.

Las secciones delgadas o “cortes” se obtienen utilizando instrumentos mecánicos diseñados para que en forma más o menos automática, seccionen el bloque de parafina en cortes delgados y de grosor uniforme.

Los instrumentos se denominan “microtomos”.

El sistema de funcionamiento de los microtomos consta de cuatro mecanismos principales:

- Sujeción del bloque de parafina.
- Sujeción de la navaja.
- El que permite que el filo de la navaja seccione al bloque en cortes delgados y de grosor uniforme.
- El de avance del bloque en un número determinado de micrómetros después que se ha obtenido un corte.

2.15.6 Coloración o tinción

Los cortes de los tejidos adheridos a los portaobjetos están listos para ser coloreados. El procedimiento de coloración o tinción consiste en que una estructura celular o tisular adquiere específicamente un color bajo la acción de una sustancia colorante. Se considera que una estructura se ha coloreado o teñido cuando al ser lavada con el líquido que disuelve al colorante, no se decolora.

2.15.7 Montaje

Concluido el proceso de la tinción de los cortes, éstos se deben colocar en condiciones de protección y de poderlos utilizar infinidad de veces sin que se deterioren. Para alcanzar tales propósitos se recurre al último procedimiento que es el montaje.

Este procedimiento consiste en colocar encima del corte coloreado y diafanizado una gota de una sustancia adherente, diluida, generalmente en xilol (resina natural como el bálsamo de Canadá o resinas sintéticas, cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio) y encima de ellos, una laminilla cubreobjetos, cuidando que no queden burbujas de aire entre la resina.

A continuación se deja que el xilol se evapore, y la resina adquiera solidez suficiente; para ello las láminas se colocan en una platina caliente (45° 50° C) durante 24 a 48 horas y estarán listas para ser observadas. (23)

2.15.8 Técnica para la tinción Hematoxilina-Eosina.

La coloración de hematoxilina - eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos, a través del microscopio fotónico.

Consiste en la tinción de:

Los núcleos mediante una hematoxilina, previamente oxidada y transformada en hemateína a la que se le añade una sustancia mordiente para formar una laca (para tal fin se usan sales metálicas de aluminio, plomo o hierro). Los núcleos se colorean de azul, azul morado, violeta, pardo oscuro o negro, dependiendo de los agentes oxidantes y mordientes que se utilizaron.

El citoplasma y material extracelular utilizando la eosina que les confiere diversos grados de color rosado.

El procedimiento de coloración de es el siguiente:

1. Desparafinar los cortes en:

- xilol- 3 minutos.
- xilol-3 minutos.

2. Hidratar los cortes en baños decrecientes de alcohol:

- alcohol absoluto (100°) -3 minutos.
- alcohol absoluto (100°) - 3 minutos.
- alcohol de 95° - 3 minutos.
- alcohol de 95°- 3 minutos.
- alcohol de 70°- 3 minutos.
- agua corriente - 5 minutos.
- agua destilada (2 baños) -1 minuto (cada uno).

3. Colorear con la solución de hematoxilina. En este paso es conveniente respetar el tiempo de coloración que recomienda cada tipo de solución de hematoxilina. Dependiendo de la fórmula de preparación el tiempo puede variar de 3 a 20 minutos.

La hematoxilina de uso más frecuente es la hematoxilina alumínica de Harris -3 a 5 minutos.

4. Lavado en agua destilada (2 baños) -un minuto cada uno.

5. Diferenciar, para eliminar el exceso de colorante, se emplea el alcohol ácido, hasta que los núcleos y los componentes basófilos de las células sean los únicos que permanezcan teñidos.

- lavar en agua corriente -2 minutos.

6. Virar al color azul, empleando soluciones de:

-Sustancias alcalinas como agua amoniacal.

-Solución de bicarbonato de sodio al 2%.

-Carbonato de litio al 1%.

- lavar en agua corriente - 5 minutos.

- lavar en agua destilada (2 baños) -1 minuto c/u.

7. Colorear con solución alcohólica o acuosa de eosina- 3 a 5 minutos.

8. Deshidratar en baños crecientes de alcohol etílico

- alcohol de 70°- 1 minuto.

- alcohol de 95°-1 minuto.

- alcohol de 95°-1 minuto.

- alcohol absoluto (100°) -1 minuto.

- alcohol absoluto (100°)- 2 minutos.

9. Diafanizar o aclarar empleando xilol:

- xilol-1 minuto.

- xilol -2 minutos.

En estas condiciones los tejidos están preparados para realizar en ellos el montaje. (23)

2.15.9 Método de valoración de fibrosis.

Se gradifica la fibrosis existente en los tejidos estudiados de acuerdo a la cantidad de la sustancia dada, esta gradificación se hace tomando en cuenta el tejido y la colágena existente en porcentajes.

El 100% corresponde al total del tejido del órgano estudiado, en este caso el pulmón del cobayo.

Se considerará como fibrosis severa cuando en el tejido la sustancia dada corresponda a un porcentaje mayor al 80% del tejido.

Se considerará como fibrosis moderada cuando en el tejido la sustancia dada corresponda a un porcentaje entre el 50% y el 80% del tejido.

Se considerará como fibrosis leve cuando en el tejido la sustancia dada corresponda a un porcentaje entre el 20% y el 40% del tejido.

CAPITULO III

OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- Demostrar histopatológicamente el efecto protector del Licopeno como antioxidante ante el estrés oxidativo producido por el herbicida Paraquat en cobayos.

3.2 Objetivos Específicos

- Determinar los efectos del Paraquat sobre el estrés oxidativo y la génesis de fibrosis pulmonar en cobayos.
- Determinar el efecto protector del licopeno sobre la fibrosis pulmonar producida por el Paraquat en cobayos.

3.3 HIPÓTESIS

Hipótesis nula (H_0): La administración del antioxidante licopeno no disminuye el daño producido por los radicales libres a nivel del tejido pulmonar generados por el herbicida Paraquat.

Hipótesis Alternativa (H_1): La administración del antioxidante licopeno disminuye el daño que producen los radicales libres a nivel de tejido pulmonar generado por el herbicida paraquat.

CAPITULO IV

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

4.1 Tipo de estudio.

Este es un estudio de tipo experimental.

4.2 Área de estudio

Para este proceso se adecuó y se utilizó el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cuenca, ubicado en la Av. 12 de Abril S/N junto al Hospital Regional Vicente Corral Moscoso.

El cuidado, la utilización apropiada y el trato humanitario de los animales empleados en la investigación requirieron de un acondicionamiento especializado de los ambientes, procesos y procedimientos relacionados con su uso y cuidado.

4.3 Universo y muestra

El universo los constituyeron los cobayos obtenidos del criadero La Ponderosa, situado en la ciudad de Cuenca. La muestra fue conformada por 48 cobayos machos de este criadero.

4.3.1 Criterios de inclusión.

- Machos.
- Raza Peruana.
- Peso entre 400 y 600 gramos.
- Edad promedio de 60 días.
- Procedentes del criadero “La Ponderosa” ubicado en la ciudad de Cuenca.

4.3.2 Criterios de exclusión.

- Hembras.
- Cobayos enfermos.
- Que no cumplan con el peso adecuado.
- Que no sean de raza Peruana.
- Que no procedan del criadero “La Ponderosa”.

4.4 Variables y operacionalización.

Variables	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala
Estrés oxidativo	Consiste en la ruptura del equilibrio entre los factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes, ya sea por un déficit de estas o por una producción exagerada de la producción de especies reactivas del oxígeno.	Fibrosis pulmonar	•Fibrosis severa cuando en el tejido la sustancia dada corresponda a un porcentaje mayor al 80% del tejido	Cualitativa ordinaria.
			•Fibrosis moderada cuando en el tejido la sustancia dada corresponda a un porcentaje entre el 50% y el 80% del tejido.	
			•Fibrosis leve cuando en el tejido la sustancia dada corresponda a un porcentaje entre el 20% y el 40% del tejido.	
Licopeno	Es una sustancia química proveniente principalmente del tomate capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas (acción antioxidante).	Protección	Disminuye la fibrosis pulmonar.	Cualitativa ordinaria.
			No disminuye la fibrosis pulmonar	
Paraquat	Es una sustancia química (Dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo) usada principalmente como un herbicida. El principal daño provocado en el organismo es la fibrosis pulmonar.	Estrés oxidativo	Produce fibrosis pulmonar.	Cualitativa ordinaria.
			No produce fibrosis pulmonar	

4.5 Métodos, técnicas e instrumentos.

El método utilizado para el desarrollo de la investigación fue el método científico. La técnica utilizada fue la observación directa y como instrumento se utilizó una base de datos diseñada en el programa Excel.

4.6. Definición de grupos.

Grupos experimentales:

- 12 cobayos recibieron licopeno.
- 12 cobayos que recibieron paraquat.
- 12 cobayos que recibieron licopeno y paraquat.

Grupo control:

Estuvo conformado por 12 cobayos.

Exposición:

Los 48 cobayos adultos machos de raza Peruana con un peso entre 400 a 600 gramos, obtenidos del criadero La Ponderosa ubicado en la ciudad de Cuenca, recibieron agua y alimentación a base de harina de maíz y sementa.

Se los dispuso en galpones distribuidos en 4 grupos separados de 12 animales cada uno y permanecieron a temperatura ambiente (14-24 grados centígrados). Los grupos fueron numerados del 1 al 4:

Grupo 1: grupo control.

Grupo 2: se administró 100mg/kg (Licopeno).

Grupo 3: se administró 60 mg/kg (Paraquat).

Grupo 4: se administró licopeno 100 mg/kg + paraquat 60 mg/kg.

Se llevó un control diario del estado de cada animal mediante una tabla. (Anexo 1)

Se procedió a la sedación y anestesia de los cobayos utilizando ketamina a una dosis de 100 mg/kg vía intra muscular. (24)

Una vez obtenida la sedación deseada, se procedió a la administración de Licopeno por vía orogástrica una vez diluido en agua a través de una sonda a una dosis de 100mg/kg según corresponda a cada grupo.

6 horas después se procedió nuevamente a la sedación de los animales para posteriormente administrar el Paraquat.

El Paraquat fue usado a una dosis única de 60 mg/kg, de igual manera administrado por vía orogástrica, diluido en 3ml de solución salina al 0.9%. 11 días después se procedió al sacrificio de los cobayos, utilizando una campana con Dióxido de Carbono. Enseguida se realizó la disección del animal y la extracción de los órganos destinados al estudio para sus respectivos cortes histológicos y posterior análisis microscópico y comparación.

La dosis del Paraquat fue calculada mediante la aplicación de un estudio piloto. (Anexo 2)

Cálculo de la dosis.

Mediantes estos resultados se determinó la dosis optima de paraquat en 60 mg/ kg de peso, la cual se obtuvo sacando la media de los resultados más representativos, los cuales encontramos entre las dosis de 50mg/kg del grupo 3 (3A y 3B) y 70 mg/ kg de peso correspondiente al grupo 4 (4A y 4B).

De la misma manera se calculó el tiempo. Se obtuvo un promedio entre los días de vida de ambos grupos, 14 días para el grupo 3 y 7 días para el grupo 4, obteniendo un promedio de 11 días.

4.7 Procedimientos.

- a) Autorización institucional para la realización del estudio.

Se obtuvo los permisos correspondientes de las autoridades de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca para el uso del Bioterio como área de estudio. (Anexos 3,4 y 5)

- b) Selección de grupos de acuerdo con los criterios de elegibilidad.
- c) Procedimientos para estudio de los grupos.
- d) Elaboración de la base de datos e ingreso de los mismos.

La base de datos fue elaborada en el programa Excel y el ingreso de los mismos se realizó a partir de los resultados histopatológicos de las muestras obtenidas inmediatamente finalizado el estudio.

- e) Análisis e interpretación de los datos.
- f) Elaboración del informe.
- g) Difusión de los resultados.

4.8 Plan de tabulación y análisis.

Una vez recolectados los datos, en el instrumento diseñado para el efecto, fueron ingresados en una base de datos elaborada en el software estadístico SPSS V.19 para su tabulación, presentación mediante tablas y análisis estadístico.

A fin de determinar la comparabilidad de los grupos se utilizó la diferencia de medias para el peso de los cobayos.

El análisis de los resultados se realizó mediante las pruebas estadísticas de análisis de riesgo, estas fueron:

Riesgo relativo (RR) para determinar el riesgo sin tratamiento se utilizó el intervalo de confianza, al 95% para así determinar la asociación estadística.

Riesgo basal se determinó mediante la reducción de la relatividad de riesgo (RAR o Riesgo Absoluto) y la reducción relativa de riesgos (RRR) para determinar si la variable independiente (VI) disminuye y no incrementa.

Por último el número necesario a tratar (NNT) sirvió para determinar el número de pacientes a tratar para evitar el evento de los que se podrían evitar con el tratamiento.

4.9 Consideraciones éticas.

Basándonos en los Principios del Gobierno de los Estados Unidos de América para la Utilización y Cuidado de los Animales Vertebrados Usados en la Investigación Científica, Pruebas de Laboratorio y la Enseñanza (U.S. Government Principles for the Utilization and Care of Vertebrate Animals Used in Testing, Research, and Training) y haciendo hincapié en su 5to y 6to literales (literales V y VI) citados a continuación:

V.- “Los procedimientos que puedan causar dolor o molestia más que ligeros o momentáneos a los animales deben realizarse bajo la sedación, analgesia o anestesia correctas. La cirugía y otros procedimientos dolorosos no deberán realizarse en animales conscientes o paralizados con agentes químicos.”

VI.- “Los animales que, de lo contrario, sufran dolor o molestia severa o crónica, que no pueda ser aliviado, deben ser sacrificarse sin dolor al final del procedimiento o, si es apropiado, durante el mismo.” (26)

Se evitó el dolor y se garantizó el bienestar de los individuos con el uso de la Ketamina, la misma que por ser una droga disociativa tiene efectos analgésicos y sobre todo anestésicos reconocidos, comprobados y recomendados en el uso veterinario. La ketamina fue administrada en dosis estandarizadas para su uso en cobayos.

Para la muerte de los individuos como parte del procedimiento experimental, se utilizó Dióxido de Carbono (CO₂).

El dióxido de Carbono es uno de los agentes inhalantes recomendados como método de eutanasia en las Directrices AVMA para la Eutanasia de los Animales, ya que la exposición a este agente inhalante utilizando un método de llenado gradual es menos probable que cause dolor debido a la activación de los nociceptores por el ácido carbónico antes de la aparición de la pérdida del conocimiento; una velocidad de desplazamiento de 10 % a 30 % del volumen de la cámara/min es la recomendada. (27)

El flujo de CO₂ se mantuvo durante al menos 1 minuto después del paro respiratorio, el CO₂ fue suministrado en una forma regulada con precisión y como agente gaseoso purificado, sin contaminantes o adulterantes, de un cilindro o tanque como suministro.

Considerando que muchos de los agentes gaseosos requieren un equipo altamente sofisticado y son caros o difíciles de obtener, el CO₂ no es caro para usar, representa poco riesgo para el personal, es muy efectivo y no interfiere con la investigación. (29)

Muchas instituciones internacionales reconocidas han definido el concepto de eutanasia entre ellas citamos a:

Panel sobre Eutanasia de la Asociación de Médicos Veterinarios de EEUU (AVMA) (aceptada por todas las agencias reguladoras norteamericanas) la define como: "Una "buena muerte" será la que ocurra sin dolor y molestia. Las técnicas de eutanasia deben dar como resultado una rápida inconsciencia seguida por un paro cardíaco o respiratorio y por último la pérdida del funcionamiento del cerebro. Además, la técnica debe minimizar cualquier experiencia de molestia o ansiedad del animal antes de la inconsciencia." (27)

Regulaciones Sobre Bienestar Animal de EEUU define a la eutanasia como: "Eutanasia significa la destrucción humana de un animal realizada por un método que produce una rápida inconsciencia y una muerte subsecuente sin evidencia de dolor o molestia, o un método que utiliza anestesia producida por un agente que, sin dolor, causa la pérdida de la consciencia y la muerte subsecuente." (28)

Gran parte del desarrollo científico y tecnológico en las ciencias biológicas y biomédicas ha sido posible gracias a la utilización de modelos animales de experimentales, este desempeña un papel principal en aéreas prioritarias de investigación como en la salud.

Su uso en investigación debe seguir estrictas normas de conducta en las cuales prime el respeto por su vida y su integridad, evitando dolor y sufrimientos innecesarios rigiéndose por los principios cardinales de las tres R's formuladas por Russell y Burch en 1959: reemplazo, reducción y refinamiento.

Si consideramos que el bienestar animal será un prerequisite para lograr resultados experimentales confiables, es esencial buscar procedimientos que mejoren el bienestar de los animales usados en investigación.

El uso de animales en la investigación biomédica es un privilegio. Ese privilegio lleva a una gran responsabilidad de los investigadores para asegurar que se lleve a cabo con los más altos valores científicos, reglamentarios y sociales. (30)(31)(32)

CAPITULO V

RESULTADOS Y ANÁLISIS

5.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

En total los 48 cobayos tuvieron pesos que variaron entre los 400 y 600 gramos. Al comparar los diferentes grupos no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$), por los que los grupos son comparables.

Cuadro N° 1.

Valores promedio y desviación estándar del peso de 48 cobayos, según grupos de estudio. Bioterio de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPO	n	MEDIA $\pm$ D.E	GRUPO	MEDIA $\pm$ D.E	DIF. MEDIAS	p
PARAQUAT	12	495.00 $\pm$ 39.89	CONTROL	500.83 $\pm$ 44.61	0.33	0.129
PARAQUAT + LICOPENO	12	480.33 $\pm$ 88.96	CONTROL	500.83 $\pm$ 44.61	0.71	0.261
PARAQUAT	12	495.00 $\pm$ 39.89	PARAQUAT + LICOPENO	480.33 $\pm$ 88.96	0.52	0.198

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

5.2 HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO CONTROL

Luego de sacrificados los cobayos pertenecientes al grupo control se pasó a determinar las alteraciones histológicas encontradas, resultando que el 100 % de los cobayos presentan infiltrado inflamatorio en el tejido pulmonar; la congestión vascular se presenta igualmente en todos los animales; un 33 % (4 cobayos) presentan hemorragia intraalveolare intersticial y en un caso hubo presencia de macrófagos alveolares.

En ninguno de los casos se encontró edema, enfisema, destrucción epitelial, abscesos, granulomas, fibrosis, macrófagos alveolares, hiperplasia de neumocitos o atelectasias.

Cuadro N° 2.

Hallazgos histológicos en tejido pulmonar de 12 cobayos (Grupo Control). Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	NUMERO	PORCENTAJE
INFILTRADO INFLAMATORIO	12	100.0
CONGESTION VASCULAR	12	100.0
HEMORRAGIA INTRAALVEOLAR E INTERSTICIAL	4	33.3
MACROFAGOS ALVEOLARES	1	8.3

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

5.3 HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO QUE RECIBIÓ LICOPENO

En los 12 cobayos a los que se administró Licopeno, se presentó congestión vascular en todos los individuos; el tercio de los casos presentó hemorragia intraalveolar; el 25 % de los casos infiltrado inflamatorio y hubo un caso en el que se reportan macrófagos alveolares.

Cuadro N° 3.

Hallazgos histológicos en tejido pulmonar de 12 cobayos (Grupo Licopeno). Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	NÚMERO	PORCENTAJE
CONGESTION VASCULAR	12	100.0
HEMORRAGIA INTRAALVEOLAR E INTERSTICIAL	4	33.3
INFILTRADO INFLAMATORIO	3	25.0
MACROFAGOS ALVEOLARES	1	8.3

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

5.4 HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO QUE RECIBIÓ PARAQUAT

En los cobayos a los que se administró Paraquat el edema, la congestión vascular, el infiltrado inflamatorio, la presencia de macrófagos alveolares y la atelectasia se presentó en el 100% de los casos. El 75 % presentaron hemorragia intraalveolar, fibrosis el 66.7 %, enfisema el 50% y destrucción epitelial el 16.7 %.

Cuadro N° 4.

Hallazgos histológicos en tejido pulmonar de 12 cobayos que recibieron Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	NUMERO	PORCENTAJE
EDEMA	12	100.0
CONGESTION VASCULAR	12	100.0
INFILTRADO INFLAMATORIO	12	100.0
MACROFAGOS ALVEOLARES	12	100.0
ATELECTASIA	12	100.0
HEMORRAGIA INTRAALVEOLAR INTERSTICIAL	9	75.0
FIBROSIS	8	66.7
ENFISEMA	6	50.0
DESTRUCCION EPITELIAL	2	16.7

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

5.5 HALLAZGOS HISTOLÓGICOS EN EL GRUPO QUE RECIBIÓ PARAQUAT + LICOPENO

En el grupo de cobayos que recibieron Paraquat y licopeno se encontró que todos presentaron congestión vascular, infiltrado inflamatorio, macrófagos alveolares o atelectasia. La hemorragia intraalveolar se encontró en el 91.7 %, el enfisema en el 66.7 %, el edema en el 50%, la destrucción epitelial en el 16.7% y granulomas en el 8.3%. No se encontraron resultados positivos para fibrosis.

Cuadro N° 5.

Hallazgos histológicos en tejido pulmonar de 12 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	NUMERO	PORCENTAJE
CONGESTION VASCULAR	12	100.0
INFILTRADO INFLAMATORIO	12	100.0
MACROFAGOS ALVEOLARES	12	100.0
ATELECTASIA	12	100.0
HEMORRAGIA INTRAALVEOLAR INTERSTICIAL	11	91.7
ENFISEMA	8	66.7
EDEMA	6	50.0
DESTRUCCION EPITELIAL	2	16.7
GRANULOMAS	1	8.3

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

5.6 PRESENCIA DE EDEMA PULMONAR EN COBAYOS A LOS QUE SE ADMINISTRÓ PARAQUAT + LICOPENO vs. PARAQUAT.

Al estudiar los grupos que recibieron Paraquat + Licopeno vs. El grupo al que sólo se le administró el Paraquat, observamos que el edema se presenta en el 50% de los casos que recibieron Paraquat + Licopeno y en la totalidad de casos que recibieron Paraquat, lo que nos da un riesgo relativo (RR) de 0.50 que al ser inferior a 1 se convierte en un factor de protección, con un intervalo de confianza para la población entre 28 % y 88 %.

La reducción del riesgo absoluto o reducción absoluta del riesgo (RAR) de presentar edema es del 50 % con un IC al 95 % entre el 22% y 78 %.

La reducción del riesgo relativo (RRR) para el edema es también del 50 % con un IC al 95 % entre el 12% y 72 %.

El número necesario de casos a tratar (NNT) para obtener esa reducción del riesgo absoluto de edema es de 2 con un IC al 95 % entre 2 y 5.

Cuadro N° 6.

Presencia de edema en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	EDEMA				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	6	50.0	6	50.0	12	100.0
PARAQUAT	12	100.0	0	0.0	12	100.0
TOTAL	18	75.0	6	25.0	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	0.50	0.28	0.88
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	0.50	0.12	0.72
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.50	0.22	0.78
NNT	2	2	5

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

5.7 PRESENCIA DE FIBROSIS PULMONAR EN COBAYOS A LOS QUE SE ADMINISTRÓ PARAQUAT + LICOPENO vs. PARAQUAT.

No se presentó fibrosis pulmonar en el grupo que recibió Paraquat + Licopeno. En el grupo al que sólo se le administró el Paraquat, observamos que la fibrosis se presenta en el 66.7 %. De los casos. No es posible calcular el riesgo relativo por no existir casos con fibrosis en el grupo experimental y por consiguiente la reducción del riesgo relativo es 1.

La reducción absoluta del riesgo relativo es del 67 % con un intervalo de confianza al 95 % entre 40 y 93 %.

El número necesario de casos a tratar (NNT) para obtener esa reducción del riesgo absoluto de fibrosis es de 2 con un IC al 95 % entre 2 y 3.

Cuadro N° 7.

Presencia de fibrosis en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	FIBROSIS				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	0	0.0	12	100.0	12	100.0
PARAQUAT	8	66.7	4	33.3	12	100.0
TOTAL	8	33.3	16	66.7	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	0.00	-----	-----
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	1.00	-----	-----
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.67	0.40	0.93
NNT	2	2	3

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

5.8 OTROS RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS

En el cuadro 8 encontramos que existe presencia de hemorragia intraalveolar e intersticial en el 91,7% en los casos que recibieron paraquat mas licopeno y en 75% que recibieron sólo paraquat, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 8.

Presencia de hemorragia intraalveolar o intersticial en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	HEMORRAGIA INTRAALVEOLAR E INTERSTICIAL				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	11	91.7	1	8.3	12	100.0
PARAQUAT	9	75.0	3	25.0	12	100.0
TOTAL	20	83.3	4	16.7	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO	I.C 95%		
RIESGO RELATIVO (RR)	1.22	0.85	1.77
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	-0.22	-0.77	0.15
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	-0.17	-0.46	0.12
NNH	6	3	

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 9 encontramos que existe presencia de enfisema en el 66,7% en los casos que recibieron paraquat mas licopeno y en 50% que recibieron sólo paraquat, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 9.

Presencia de enfisema en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	ENFISEMA				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	8	66.7	4	33.3	12	100.0
PARAQUAT	6	50.0	6	50.0	12	100.0
TOTAL	14	58.3	10	41.7	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	1.33	0.67	2.67
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	-0.33	-1.67	0.33
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	-0.17	-0.56	0.22
NNH	6	2	

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 10 encontramos que existe presencia de granulomas en el 8,3% de los casos que recibieron paraquat mas licopeno y 0% en los que recibieron sólo paraquat, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 10.

Presencia de granulomas en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	GRANULOMAS				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	1	8.3	11	91.7	12	100.0
PARAQUAT	0	0.0	12	100.0	12	100.0
TOTAL	1	4.2	23	95.8	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO	I.C 95%		
RIESGO RELATIVO (RR)	-----		
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	-----		
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	-0.08	-0.24	0.07
NNH	12	5	

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 11 encontramos que existe presencia de destrucción epitelial en el 16,7% en los casos que recibieron paraquat mas licopeno y en 16,7% que recibieron sólo paraquat, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 11.

Presencia de destrucción epitelial en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	DESTRUCCION EPITELIAL				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	2	16.7	10	83.3	12	100.0
PARAQUAT	2	16.7	10	83.3	12	100.0
TOTAL	4	16.7	20	83.3	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	1.00	0.17	5.98
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	0.00	-4.98	0.83
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.00	-0.30	0.30
NNT	INFINITO	4	-4

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 12 encontramos que no se presentó congestión vascular, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 12.

Presencia de congestión vascular en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	CONGESTION VASCULAR				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	12	100.0	0	0.0	12	100.0
PARAQUAT	12	100.0	0	0.0	12	100.0
TOTAL	24	100.0	0	0.0	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	1.00	1.00	1.00
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	0.00	0.00	0.00
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.00	0.00	0.00
NNT	INFINITO	-----	-----

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 13 encontramos que no se presentó abscesos, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 13.

Presencia de absceso en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	ABSCESO				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	0	0.0	12	100.0	12	100.0
PARAQUAT	0	0.0	12	100.0	12	100.0
TOTAL	0	0.0	24	100.0	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	-----		
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	-----		
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.00	0.00	0.00
NNT	INFINITO	-----	-----

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 14 encontramos que el 100% de los casos presentó infiltrado inflamatorio, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 14.

Presencia de infiltrado inflamatorio en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	INFILTRADO INFLAMATORIO				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	12	100.0	0	0.0	12	100.0
PARAQUAT	12	100.0	0	0.0	12	100.0
TOTAL	24	100.0	0	0.0	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	1.00	1.00	1.00
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	0.00	0.00	0.00
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.00	0.00	0.00
NNT	INFINITO	-----	-----

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 15 encontramos que el 100% de los casos presentó macrófagos alveolares, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 15.

Presencia de macrófagos alveolares en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	MACROFAGOS ALVEOLARES				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	12	100.0	0	0.0	12	100.0
PARAQUAT	12	100.0	0	0.0	12	100.0
TOTAL	24	100.0	0	0.0	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	1.00	1.00	1.00
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	0.00	0.00	0.00
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.00	0.00	0.00
NNT	INFINITO	-----	-----

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 16 encontramos que no se presentó hiperplasia de neumocitos, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 16.

Presencia de hiperplasia de neumocitos en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	HIPERPLASIA DE NEUMOCITOS				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	0	0.0	12	100.0	12	100.0
PARAQUAT	0	0.0	12	100.0	12	100.0
TOTAL	0	0.0	24	100.0	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	-----		
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	-----		
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.00	0.00	0.00
NNT	INFINITO	-----	-----

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

En el cuadro 17 encontramos que el 100% de los casos presentó atelectasia, lo cual no fue significativo.

Cuadro N° 17.

Presencia de atelectasia en cortes histológicos de pulmón de 24 cobayos que recibieron Paraquat + Licopeno o Paraquat. Laboratorio de Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca. 2014.

GRUPOS DE ESTUDIO	ATELECTASIA				TOTAL	
	PRESENTE		AUSENTE			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
PARAQUAT + LICOPENO	12	100.0	0	0.0	12	100.0
PARAQUAT	12	100.0	0	0.0	12	100.0
TOTAL	24	100.0	0	100.0	24	100.0

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

ESTADÍSTICAS DE RIESGO		I.C 95%	
RIESGO RELATIVO (RR)	1.00	1.00	1.00
REDUCCIÓN DEL RIESGO RELATIVO (RRR)	0.00	0.00	0.00
REDUCCIÓN ABSOLUTA DEL RIESGO (RAR)	0.00	0.00	0.00
NNT	INFINITO	-----	-----

Fuente: Base de datos.

Elaboración: Los autores.

CAPITULO VI

DISCUSIÓN

La investigación sobre el papel de los antioxidantes en la disminución de la generación de ciertas enfermedades y cambios orgánicos dependientes de estrés oxidativo ha sido ampliamente estudiada desde hace décadas en animales.

El efecto protector de otros antioxidantes como la melatonina ha sido estudiado previamente demostrando disminuir la peroxidación lipídica y las concentraciones de glutatión en los hígados y pulmones de ratas a las que se administró paraquat en dosis variables de acuerdo a los resultados obtenidos por Melchiorri (40).

El licopeno ha demostrado en varios estudios revisados, tener efecto protector ante el estrés oxidativo inducido por la dieta y fármacos en algunas clases de roedores (conejos, ratas y ratones) con análisis histopatológico de inflamación a nivel de tejido adiposo (Gouranton et al.) como en presencia y protección contra enfermedad aterosclerótica (Lorenz et al., Verschuren et al., Zhu et al.) (34, 35, 36, 38).

De la misma manera se ha analizado la probabilidad de prevención del desarrollo de ciertos tipos de cáncer tras la administración de licopeno en ratones (Koneji et al.), mostrando resultados no concluyentes sobre prevención de aparición de cáncer pero indicando disminución del daño oxidativo sobre los tejidos analizados. (37).

Los resultados obtenidos por Kumar et al. Tras la administración de licopeno en ratas a las cuales se indujo Huntington con la administración de 3-NP mostraron disminución de la alteración del comportamiento motor en estos animales (31).

Dentro de los hallazgos histopatológicos de las piezas obtenidas de los sujetos que conformaron los grupos a los cuales se administró paraquates evidente la presencia de marcadores de estrés oxidativo (atelectasia, fibrosis, infiltración inflamatoria y presencia de macrófagos alveolares).

Los resultados obtenidos en nuestra investigación muestran la misma tendencia que los estudios revisados siendo alentadores en relación a la administración de licopeno como factor protector del estrés oxidativo producido por el paraquat analizado como la presencia de fibrosis (RRR: 100% IC: -, RAR: 67% IC: 0.4 – 0.93, NNT: 2 IC: 2-3) y edema pulmonar (RR:0.5 IC: 0.28 – 0.88 RAR: 50% IC: 0.22 – 0.78, RRR: 50% IC: 0.12 – 0.72, NNT: 2 IC: 2-5) demostrada histopatológicamente en cobayos. Sin embargo existieron características histopatológicas que no pudieron ser analizadas en su totalidad debido al tamaño de la muestra.

Es llamativo también que la totalidad de las muestras analizadas de los cobayos mostraron la presencia de congestión vascular importante y otras anormalidades histopatológicas probablemente secundarias a la forma en la cual se sacrificó a los sujetos del estudio y a la probabilidad de la presencia de alteraciones orgánicas presentes y externas al control del estudio.

CAPITULO VII

7.1 CONCLUSIONES

- Se evidenció la presencia de congestión vascular en todos los cobayos conformantes del estudio probablemente secundaria al método de sacrificio de los sujetos estudiados.
- En el grupo control además fue llamativa la presencia de infiltrado inflamatorio en todos los sujetos examinados.
- La administración de licopeno a las dosis calculadas en este estudio mostró ser inócua en la producción de alteraciones anatomopatológicas.
- La totalidad de los sujetos los que se administró paraquat presentaron uno o varios marcadores de estrés oxidativo (atelectasia, fibrosis, infiltración inflamatoria y presencia de macrófagos alveolares) demostrando la acción pro-oxidativa de este compuesto.
- Ninguno de los sujetos examinados del grupo paraquat + licopeno presentó fibrosis confirmando la hipótesis de su efecto antioxidante.
- El infiltrado inflamatorio, macrófagos alveolares y atelectasia estuvieron presentes en la totalidad de cobayos sometidos al agente productor de estrés oxidativo (paraquat y paraquat + licopeno).
- La administración de licopeno en el grupo licopeno + paraquat mostró ser un factor de protección importante en el desarrollo de edema pulmonar.
- La presencia de fibrosis fue nula en el grupo al que se administró licopeno además de paraquat.

- Los demás resultados histológicos (hemorragia intraalveolar o intersticial, enfisema, granulomas, destrucción epitelial, congestión vascular, abscesos, infiltrado inflamatorio, presencia de macrófagos alveolares, hiperplasia de neumocitos y atelectasia) no fueron susceptibles de análisis de riesgo ya que los intervalos de confianza incluyeron a la unidad o por la presencia de celdas con valor 0 en las tablas conformadas.

7.2 RECOMENDACIONES

- Revisar los métodos de cuidado, manipulación y sacrificio de los animales estudiados a fin de prevenir la aparición de anomalías en el estudio histopatológico que influyan en el resultado.
- Realizar nuevos estudios con un tamaño de muestra mayor al estudiado.
- Realizar nuevos estudios dirigidos a la investigación de los efectos de otros antioxidantes y otros productores de estrés oxidativo en distintos órganos y especies que los estudiados.
- Propiciar el campo para la aplicación de los resultados obtenidos de la presente investigación en humanos.

7.3 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Venéreo Gutiérrez Justo R, Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. RevCubMed Mil [revista en la Internet]. 2002 Jun [citado 2013 Ene 24]; 31(2): 126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es.
2. Rodríguez Perón José Miguel, Menéndez López José Rogelio, Trujillo López Yoel. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. RevCubMed Mil [serial onthe Internet]. 2001 Mar [cited 2013 Jan 24]; 30(1): 15-20. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572001000100007&lng=en.
3. Reyna María Cruz Bojórquez, Javier González Gallego y Pilar Sánchez Collado. Propiedades funcionales y beneficios para la salud del licopeno. México, España: CODEN NUHOEQ; 2013.
4. Departamento de Enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud. Organización Mundial de la Salud. CH-1211 Ginebra 27. Suiza: Disponible en: http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/en/
5. Lic. Rosa Araujo Álvarez, Mg. Maura Guzmán Cruz, Mg. Marieta González, Mg. Judith Encalada Elizalde. Enfermedades Crónico-Degenerativas Y Salud Mental. Modulo VI. Loja, Ecuador: 2012.
6. INEC, Variables de Defunciones Generales. Ecuador: 2012.
7. Dean P. Jones. Antioxidants & Redox Signaling. 2006, 8(9-10): 1865-1879. doi:10.1089/ars.2006.8.1865. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16987039>.

8. JOE M. McCORD, IRWIN FRIDOVICH; The Biology and Pathology of Oxygen Radicals. *Annals of Internal Medicine*. 1978 Jul; 89(1):122-127. Disponible en:
<http://annals.org/article.aspx?articleid=692146>.
9. Dr. Castañeda C. B., Q.F. Ramos LL. E., Dra. Ibáñez V. L. 3, Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas, *Revista Horizonte Médico*, Volumen 8, N° 1, Perú, Julio 2008. Disponible en:
http://www.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2008_I/Art4_Vol8_N1.pdf.
10. Ricardo H. Chihuailaf*, Pedro A. Contreras*, Fernando G. Wittwer*, Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal, Chile, 2001.
<http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-2002/vm023f.pdf>.
11. WaliszewskiKrzysztof N, Blasco Gabriela. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *Salud pública Méx* [revista en la Internet]. 2010 Jun [citado 2013 Ene 24]; 52(3): 254-265. Disponible en:
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342010000300010&lng=es.
12. Vitale Arturo Alberto, Bernatene Eduardo Alberto, Pomilio Alicia Beatriz. Carotenoides en quimioprevención: Licopeno. *Acta bioquím. clín. latinoam*. [revista en la Internet]. 2010 Jun [citado 2013 Ene 24]; 44(2): 195-238. Disponible en:
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572010000200005&lng=es.
13. Rao AV, Agarwal S. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr Cancer* 1998; 31:199-203.

14. Parker RS. Absorption, metabolism and transport of carotenoids. FASEB J 1996; 10:542-551.
15. Agarwal S, Rao VA. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. Can MedAssoc J 2000; 163:739-744.
16. V. Fernández-Ruiz, M. Camara, J.C.Quintinela. Ingredientes bioactivos del tomate: El Licopeno. NutrClinDietHosp N 3/2007. Vol. XXVII/166
17. López Lago A. M., Rivero Velasco C., Galban Rodríguez C., Mariño Rozados A., Piñeiro Sande N., Ferrer Vizoso E. Envenenamiento por Paraquat y hemoperfusión con carbón activado. An. Med. Interna (Madrid) [revista en la Internet]. 2002 Jun [citado 2013 Mar 21]; 19(6): 52-54. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992002000600009&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S0212-71992002000600009>.
18. SyngentaCropProtection, Usos Del Paraquat, <http://paraquat.com/spanish/enlaces-%C3%BAtiles>
19. Salguero Villadiego M., Martínez Sánchez MC., Soria Sánchez ML., García Rodríguez S., Repetto Kuhn G. Estudio histopatológico de las lesiones hepáticas inducidas por paraquat. Cuad. med. forense [revista en la Internet]. 2005 Abr [citado 2013 Mar 21]; (40): 113-117. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-76062005000200003&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4321/S1135-76062005000200003>.
20. U.S EnviromentalProtection Agency, Reconocimiento y Manejo de los Envenenamientos por Pesticidas, 5ta edición, UnitedStates, Última

actualización 5/09/2012, revisado 21/03/13, sección 3: Herbicidas, paraquat y diquat

21. Robbe WC III, Meggs WJ. Insecticides, herbicides, rodenticides. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS, Ma OJ, Cline DM, eds. Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide. 6th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2004: chap 182.
22. Montalvo Arenas César, Apuntes de Técnica Histológica, Arenas, México, 2010.
23. Lynch Matthew, Joseph Gerrad, Métodos de Laboratorio, México, D. F. Interamericana.Mcgraw-Hill, 2 Ed., México, 1972.
24. Tratado de anestesia y reanimación, Luis Miguel Torres Morera, Arán Ediciones, Madrid, España, 2001.
25. Vale JA, Meredith TJ, and Buckley BM. Paraquat poisoning: Clinical features and immediate general management. Hum Toxicol 1987; 6:41-7.
26. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. Washington, DC: The National Academies Press, 2011.
27. American Veterinary Medical Association, AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals, 2013 Edition, United States.
28. Cardoso Carmen A., MradAfife, Martínez Constanza, Rodríguez Eduardo, Lolas Fernando, El animal como sujeto experimental. Aspectos técnicos y éticos, Primera edición, Chile, 2007.
29. Richard L. Crawford, D.V.M, Animal Welfare Act Quick Reference Guide, United States, 2013. Disponible en:

<http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/Legislat/awabrief.shtml>

30. Cuesta Luis, Sánchez Kyrenia, Aspectos éticos de la experimentación con animales, Cuba, 2007.
31. Comité Asesor de Bioética, FONDECYT-CONICYT, "Aspectos Bioéticos de la Experimentación Animal", Chile, 2009.
32. Hernández Silvia, El modelo animal en la investigaciones biomédicas, Uruguay, UdelaR, 2006.
33. Serrano Gallegos Roque, Introducción al análisis de datos experimentales: tratamiento de datos en bioensayos, España, Publicacions de laUniversitat Jaume I, D.L. 2003
34. Gouranton E, Thabuis C, Riollot C, Malezet-Desmoulins C, El Yazidi C, Amiot MJ, Borel P, Landrier JF. Lycopene inhibits proinflammatory cytokine and chemokine expression in adipose tissue. J NutrBiochem 2011; 22: 642-648.
35. Lorenz M, Fechner M, Kalkowsky J, Fröhlich K, Trautmann A, Böhm V, Liebisch G, Lehneis S, Schmitz G, Ludwig A, Baumann G, Stangl K, Stangl V. Effect of lycopene on the initial state of atherosclerosis in New Zealand White (NZW) rabbits. PLoS One 2012; 7: e30808.
36. Verschuren L, Wielinga P, van Duyvenvoorde W, Tijani S, Toet K, van Ommen B, Kooistra T, Kleemann R. A dietary mixture containing fish oil, resveratrol, lycopene, catechins, and vitamins E and C reduces atherosclerosis in transgenic mice. J Nutr 2011; 141: 863-869.
37. Konijeti R, Henning S, Moro A, Sheikh A, Elashoff D, Shapiro A, Said, J, Heber D, Cohen P, Aronson W. Chemoprevention of prostate cancer with lycopene in the tramp model. Prostate 2011; 70: 1547-1554.

38. Zhu J, Wang CG, Xu YG. Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress. *PharmBiol* 2011; 49: 1144-1149.
39. Kumar P, Kalonia H, Kumar A. Lycopene modulates nitric oxide pathways against 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity. *Life Sci* 2009; 85: 711-718.
40. Melchiorri D, Reiter R, Attia A, Hara M, Burgos A, Nistico G. Potent protective effect of melatonin on in-vivo paraquat-induced oxidative damage in rats. *Life Sciences* 1995; Vol 56, No 2: 83-89.

ANEXOS

ANEXO 1

PROTOCOLO DE SUPERVISIÓN DIARIA DE ANIMALES

Fuente: Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare - edited by S. Wolfensohn and M. Lloyd, Oxford University Press, 1994.

Animal:	Puntaje	Fecha/Hora	Fecha/Hora	Fecha/Hora	Fecha/Hora	Fecha/Hora	Fecha/Hora	Fecha/Hora
Apariencia								
Normal	0							
Falta de aicalamiento (pelo en mal estado)	1							
Pelo en mal estado y/o secreciones oculares/nasales	2							
Pelo erizado, postura anormal	3							
Ingestión de agua y alimento/ Pérdida de peso								
Normal	0							
Incierta: pérdida de peso < al 5%	1							
Baja en el consumo: pérdida de peso 10 a 15%	2							
No hay consumo de alimento y agua	3							
Signos Clínicos								
Normal en temperatura, frecuencia respiratoria y cardíaca	0							
Cambios leves	1							
$T_{re} \geq 1^{\circ}C$; Frec. card./resp $\pm 30\%$	2							
$T_{re} \geq 2^{\circ}C$; Frec. card./resp $\pm 50\%$, o muy baja	3							
Comportamiento espontáneo								
Normal, esperado	0							
Cambios menores respecto a lo esperado	1							
Poca movilidad y bajo estado de alerta, aislado del resto	2							
Vocalizaciones, automutilación, muy inquieto o muy deprimido	3							
Comportamiento provocado (manipulación)								
Normal	0							
Leve depresión o respuesta exagerada	1							
Cambio moderado en la respuesta esperada	2							
Reacciona violentamente o muy débil y precomatoso	3							
Ajuste de puntaje								
Si asignó '3' más de una vez, sume un punto extra por cada '3'	2-5							
Total	0-20							

0-4 Normal

5-9 Monitorear cuidadosamente, considerar analgésicos.

10-14 Sufimiento, proporcionar alivio, observar regularmente. Buscar segunda opinión de cuidador o veterinario a cargo. Considerar eutanasia.

15-20 Dolor severo. Eutanasia. Protocolo necesita ser re-evaluado.

ANEXO 2

Realización de Prueba Piloto.

Previo al ensayo experimental se realizó una prueba piloto para determinar las dosis óptimas tolerables por los animales, para de esta mantenerlos vivos el tiempo necesario para que aparezcan las manifestaciones de daño a nivel pulmonar, el cual según la literatura aparece entre los 7 a 14 días. (25)

La prueba piloto se realizó de la siguiente manera:

Los cobayos se seleccionaron de acuerdo a las siguientes características:

- Machos.
- Raza Peruana.
- Peso entre 400 y 600 gramos.
- Edad promedio de 60 días.
- Procedentes del criadero “La Ponderosa” ubicado en la ciudad de Cuenca.

Los cobayos habitaron por parejas en jaulas metálicas de 40*20cm, a temperatura ambiente (12-24grados centígrados).

Recibieron alimentación a voluntad, a base de agua, harina de maíz y sema, la cual se le cambiaba una vez por día.

Las condiciones sanitarias del Bioterio fueron adecuadas, para lo cual realizamos limpieza de las jaulas una vez por día y desinfección del Bioterio previo al inicio de la investigación.

Para la administración del Paraquat, previamente se indujo la sedación mediante la administración de Ketamina 100mg/kg IM. (24)

Posteriormente se procedió a la administración del Paraquat a diferentes dosis diluido en 3cc de solución salina mediante una sonda orogástrica, dividiéndolos en diferentes grupos (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de individuos de estudio piloto por peso y dosis de paraquat, Bioterio -Facultad de Medicina Universidad de Cuenca, Cuenca 2013.

Grupos	Cobayos	Peso	Días de vida	Dosis Paraquat mg/kg	Dosis Ketamina mg	Dosis Ketamina ml	Dosis Paraquat mg	Dosis Paraquat ml
1	a	421gr	7 días	10	16,84	0,33	4,21	0,02
	b	456gr	14 días	10	18,24	0,36	4,56	0,02
2	a	543gr	7 días	30	21,72	0,43	16,29	0,06
	b	503gr	14 días	30	20,12	0,4	15,09	0,05
3	a	394gr	7 días	50	15,76	0,31	19,7	0,07
	b	425gr	14 días	50	17	0,34	21,25	0,07
4	a	554gr	7 días	70	22,16	0,44	38,78	0,14
	b	400gr	2 días	70	16	0,32	28	0,1
5	a	438gr	3 días	90	17,52	0,35	39,42	0,14
	b	415gr	3 días	90	16,6	0,33	37,35	0,14

Fuente: Estudio Piloto

Elaboración: Los autores

Transcurrido los días de vida propuestos para cada uno de los animales, se procedió al sacrificio de los mismos utilizando una campana de CO₂.

Una vez sacrificados los animales, se procedió a la disección de los mismos mediante un corte longitudinal sobre el tórax, se abrió la caja torácica para obtener ambos pulmones, utilizando una técnica de ligadura de los bronquios previo a la extracción de los mismos, para así evitar una falsa congestión alveolar.

Los pulmones previamente extraídos, fueron colocados en envases para muestra de orina, sumergidos en formol al 20%, para así conseguir la fijación del tejido.

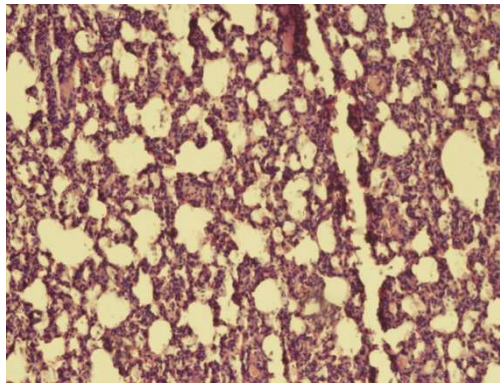
Las muestras se rotularon en cada frasco y se transportaron adecuadamente para el respectivo estudio anatomopatológico.

RESULTADOS DE LA PRUEBA PILOTO

Placa 1A.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Infiltrado Inflamatorio focal intersticial de mononucleares, neutrófilos; edema intraalveolar; Ausencia de fibrosis. (Imagen N.-1)

Imagen N.-1



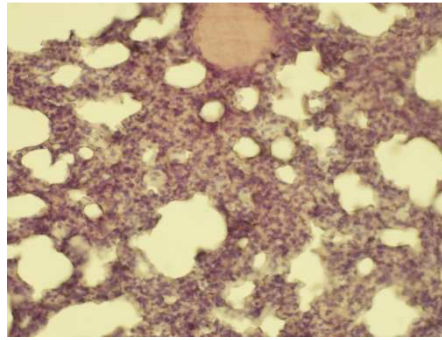
Fuente: placa 1A, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 1B.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Engrosamiento, fibrosis intersticial de leve a moderado, con infiltrado inflamatorio intersticial de mononucleares. Áreas de enfisema y Atelectasia (Imagen N.-2)

Imagen N.-2



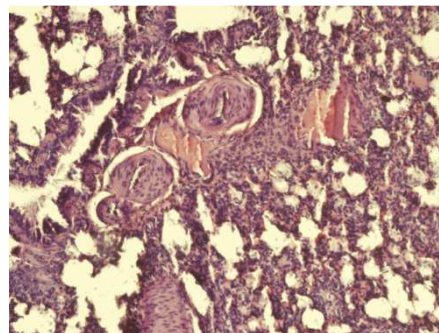
Fuente: placa 1b, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 2A.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Engrosamiento, infiltrado inflamatorio intersticial de mononucleares. Congestión vascular con extravasación, edema intraalveolar. Enfisema y Atelectasia (Imagen N.-3)

Imagen N.-3

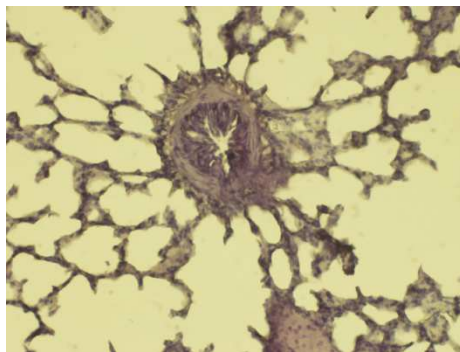


Fuente: placa 2A, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 2B.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Áreas de enfisema, fibrosis perivascular y peribronquial. (Imagen N.-4 e Imagen N.-5). Imagen N.-4



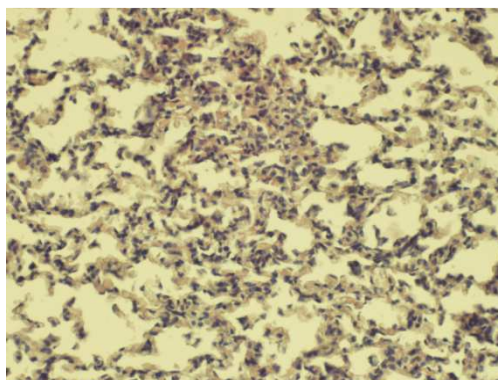
Fuente: placa 2B, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 3A.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Congestión vascular intersticial, extravasación eritrocitaria, infiltrado inflamatorio linfocitario, Atelectasia, hemorragia, fibrosis. (Imagen N.-6)

Imagen N.-6



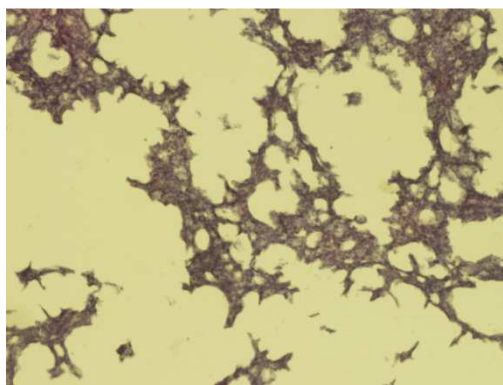
Fuente: placa 3A, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 3B.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Enfisema, fibrosis, engrosamiento, infiltrado inflamatorio intersticial de mononucleares (Imagen N.-7)

Imagen N.-7



Fuente: placa 3b, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.
Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 4A.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Fibrosis, infiltrado inflamatorio intersticial de mononucleares, fibrosis y engrosamiento de tabiques interalveolares edema intraalveolar y neutrófilos (Imagen N.-8 e Imagen N.-9)

Imagen N.-8

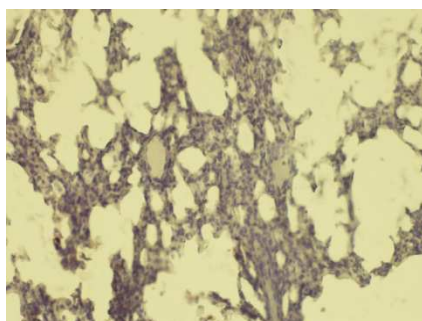
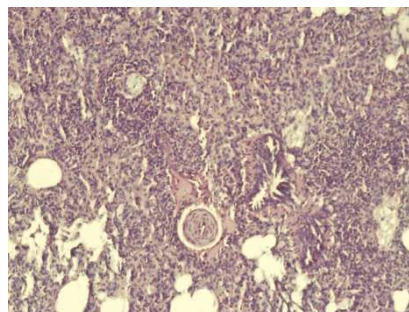


Imagen N.-9

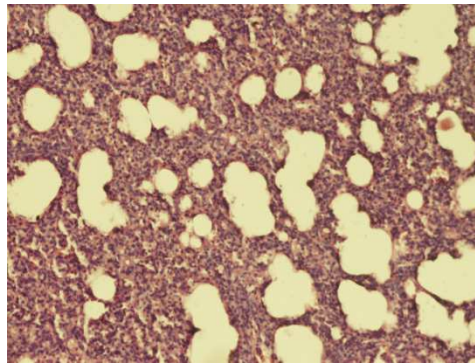


Fuente: placa 4A, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.
Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 4B

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Neumonitis intersticial severa, Atelectasia y enfisema. (Imagen N.-10)

Imagen N.-10



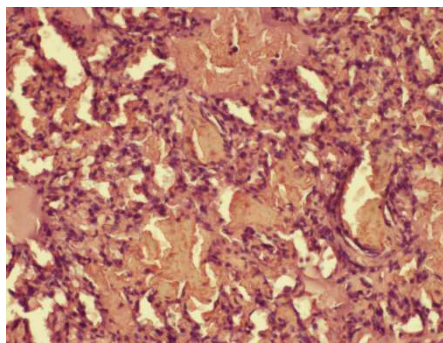
Fuente: placa 4B, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 5A

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Atelectasia, edema hemorrágica intranuclear, no se observa fibrosis. (Imagen N.-11)

Imagen N.-11



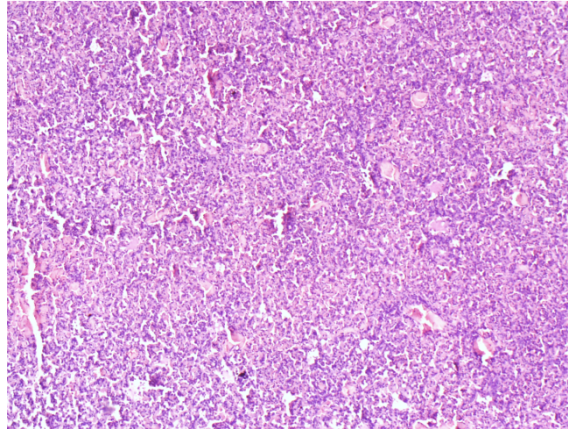
Fuente: placa 5A, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

Placa 5B.

Corresponde a corte de tejido pulmonar en el cual se observa: Enfisema, atelectasia, edema, hemorragia, infiltrado inflamatorio focal y difuso de mononucleares (Imagen N.-12)

Imagen N.-12



Fuente: placa 5B, Laboratorio de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina Universidad de Cuenca.

Autores: Dra. Rocío Murillo, David Torres, Galo Verdugo, Christian Torres.

ANEXO 3

Cuenca, 10 de Agosto del 2013

De:

Pablo Cordero Gula

Decano de la Facultad de Ciencias Médicas

Presente

De mi consideración;

Yo, Galo Andrés Verdugo Avalos, estudiante de 9no Ciclo de la carrera de Medicina, mediante la presente me dirijo a usted para solicitarle de la manera más comedida me autorice el uso del área del Bioterio con el fin de que pueda finalizar el proyecto de investigación de mites a que voy a realizarlo en este espacio físico.

Adjunto a esta petición una copia de la autorización anterior que permitió llevar a cabo los proyectos piloto partes del estudio.

Anticipo mis agradecimientos por la atención que preste a mi petición.



Galo Verdugo Avalos

0104444138

10-X-2013





UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE MEDICINA

Cuenca No. 051-DEM-12
Cuenca, octubre 22 de 2012

Señor
Patricio Valiadares
Consejero de la Facultad de Ciencias Médicas
Presente

De mi consideración:

Mediante la presente me permito solicitar a usted se le facilite al señor Christian Torres, estudiante de noveno ciclo de la Escuela de Medicina, una copia de la clave de la bodega del Bioterio con el fin de que pueda utilizar ese espacio físico para un proyecto de investigación de su tesis.

El señor Arteaga requiere contar con las jaulas que se utilizaban anteriormente para las prácticas de Farmacología por lo que agradeceré se lo entregue oportunamente las mismas.

Atentamente


Cm. Denise Soriz Camán
Directora de la Escuela de Medicina





**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE MEDICINA**

Oficio no. 333-DEM-13
Cuenca, octubre 10 de 2013

Abogada
María Alvarado Gallegos
Secretaria Abogada de la Facultad de Ciencias Médicas
Presente

De mi consideración:

Me permito mediante la presente informar a usted que los señores estudiantes de la carrera de Medicina, Cristian Torres, David Torres y Galo Verdugo, cuentan con la autorización del señor Decano, para la utilización del área del antiguo Bioterio donde están desarrollando su trabajo de investigación de su tesis cuyo tema es: "Demostración Histopatológica del efecto protector del licopeno como antioxidante ante el stress oxidativo producido por el herbicida parakuat, en cobayos. Cuenca 2013".

Por tanto agradeceré se sirva a su vez permitir que los estudiantes puedan ingresar los fines de semana en el horario de 16h00 a 18h00, para el cuidado y mantención de los animales que se encuentran en el bioterio de la Facultad.

Agradezco anticipadamente por su gentil atención.

Atentamente,


Dr. Juan Cantos Ormaza
Director de la Escuela de Medicina



Av. El Paraíso 3-52 teléfono: 593-7- 4051155 / 4051000 ext. 3111 Fax: 4051157
casilla 01-01-1891 E-mail: demed@ucuenca.edu.ec
Cuenca - Ecuador

