



UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

Tiempos de excreción urinaria de fluoresceína sódica administrada por vías
intraesplénica y subcutánea en ratas albinas mediante observación bajo
iluminación UV

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médica Veterinaria

AUTOR(A)

Ramos Ponce, Daniela

(ORCID: 0009-0004-8027-5879)

ASESOR(A)

Mg. Bezold Arnillas, Ursula Liliana

(ORCID: 0000-0002-4742-691X)

Lima, Perú

2024

Metadatos Complementarios

Datos de autora:

Ramos Ponce, Daniela

Tipo de documento de identidad: DNI

Número de documento de identidad: 72711991

Datos de asesor

Bezold Arnillas, Ursula Liliana

Tipo de documento de identidad: DNI

Número de documento de identidad: 09876570

Datos del jurado

JURADO 1: Risco Goicochea, Guillermo Raúl

Número de documento de identidad: 10266512

Código ORCID: 0000-0002-4952-7589

JURADO 2: Pauta Gálvez, Mario Martin

Número de documento de identidad: 45868433

Código ORCID: 0000-0001-6388-2061

JURADO 3: Villar Amasifen, Emily Scarlett

Número de documento de identidad: 71311560

Código ORCID: 0000-0002-5268-6783

Datos de la investigación

Campo del conocimiento OCDE: 4.03.01

Código del Programa: 841016

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Yo, Daniela Ramos Ponce, con código de estudiante N° 201111041, con (DNI o Carné de Extranjería¹) N° 72711991, con domicilio en Avenida La Fontana 276, distrito La Molina, provincia y departamento de Lima.

En mi condición de bachiller en Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Biológicas, declaro bajo juramento que:

La presente tesis titulada: "Tiempos de excreción urinaria de fluoresceína sódica administrada por vías intraesplénica y subcutánea en ratas albinas mediante observación bajo iluminación UV" es de mi única autoría, bajo el asesoramiento del docente Mag. Ursula Lilian Bezold Arnillas, y no existe plagio y/o copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación presentado por cualquier persona natural o jurídica ante cualquier institución académica o de investigación, universidad, etc; La cual ha sido sometida al antiplagio Turnitin y tiene el 7% de similitud final.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en la tesis, el contenido de estas corresponde a las opiniones de ellos, y por las cuales no asumo responsabilidad, ya sean de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o de internet.

Asimismo, ratifico plenamente que el contenido íntegro de la tesis es de mi conocimiento y autoría. Por tal motivo, asumo toda la responsabilidad de cualquier error u omisión en la tesis y soy consciente de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de falsa declaración, me someto a lo dispuesto en las normas de la Universidad Ricardo Palma y a los dispositivos legales nacionales vigentes.

Surco, 06 de Julio de 2024



Daniela Ramos Ponce
(Nombre completo y Firma)

(N° DNI o Carné de Extranjería) 72711991



Mg. Mario Martín Pauta Gálvez
Jefe Unidad Grados y Títulos
FCB

¹ Se debe colocar la opción que corresponda, realizar lo mismo en todo el texto del documento.

Tiempos de excreción urinaria de fluoresceína sódica administrada por vías intraesplénica y subcutánea en ratas albinas mediante observación bajo iluminación UV

INFORME DE ORIGINALIDAD

7%

INDICE DE SIMILITUD

8%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	3%
2	Submitted to Universidad Ricardo Palma Trabajo del estudiante	1%
3	www.scielo.cl Fuente de Internet	<1%
4	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1%
5	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	<1%
6	revistas.unilibre.edu.co Fuente de Internet	<1%
7	www.urp.edu.pe Fuente de Internet	<1%
8	webwatch.itsmarta.com Fuente de Internet	<1%

9	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	< 1 %
10	Submitted to Rutgers University, New Brunswick Trabajo del estudiante	< 1 %
11	www.elsevier.es Fuente de Internet	< 1 %
12	Submitted to Universidad de Los Llanos, UNILLANOS Trabajo del estudiante	< 1 %
13	docplayer.es Fuente de Internet	< 1 %
14	livrosdeamor.com.br Fuente de Internet	< 1 %
15	biblioteca.utb.edu.co Fuente de Internet	< 1 %
16	Harith M. Al-Hiyali. "Isolation of four types of bacteria that cause kidney damage in broiler chickens", The Iraqi Journal of Veterinary Medicine, 2005 Publicación	< 1 %
17	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	< 1 %

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 20 words

DEDICATORIA

A mi familia,
quienes con su amor incondicional y su inquebrantable apoyo constante han sido mi mayor fuente de inspiración y fortaleza a lo largo de este arduo pero gratificante camino académico. Su constante aliento y confianza en mí han sido el motor que me impulsó a seguir adelante en este arduo camino. Este logro también es suyo.

A mis profesores, Asesores y a los líderes de la empresa en la que laboro, por su invaluable guía, sabiduría y paciencia, que han sido fundamentales en mi formación y crecimiento como investigador.

A mis amigos y compañeros de estudios, por sus palabras de aliento, por compartir esta travesía conmigo y por siempre estar presentes en los momentos de alegría y desafíos.

A todas las personas que han contribuido de alguna manera a la realización de este trabajo, por su colaboración, motivación y aportes que han enriquecido este proyecto.

Dedicado con cariño y gratitud.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera especial a mi director de tesis, Dra Ursula Bezold Arnillas, por su orientación experta, invaluable retroalimentación, paciencia y constante apoyo a lo largo de este proyecto.

Mi reconocimiento a mis padres, Gaby Ponce Hurtado y Alfredo Ramos Tapia, por su sacrificio, apoyo incondicional y por ser mi inspiración. Este logro es también suyo.

Agradezco a mi familia nuclear y mis amigos cercano, por su aliento, comprensión y por su presencia constante a lo largo de este arduo proceso de investigación.

Expreso mi agradecimiento a la Universidad Ricardo Palma, por brindar los recursos y facilidades necesarios para llevar a cabo este estudio con éxito.

ÍNDICE

RESUMEN	5
I. INTRODUCCIÓN	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
1.1 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	12
1.2.1 Objetivo General.....	14
1.2.2 Objetivos Específicos.....	14
II. MARCO TEÓRICO	15
2.1 FLUORESCENCIA	15
2.2 FLUORESCENCIA SÓDICA.....	15
2.2.1 ESTRUCTURA QUÍMICA.....	15
2.2.2 CARACTERÍSTICAS	16
2.2.3 FLUORESCENCIA	16
2.2.4 FARMACOCINÉTICA DE LA FLUORESCENCIA SÓDICA.....	17
2.2.5 EFECTOS ADVERSOS Y TOXICOLOGÍA DE LA FLUORESCENCIA	20
2.3 SISTEMA VENOSO PORTAL DE LA RATA	22
2.4 ANATOMÍA DEL BAZO DE LA RATA	23
2.5 VIA INTRAESPLÉNICA.....	24
III. ANTECEDENTES	26
3.1 MEDICINA VETERINARIA	26
3.2 ÁMBITO NACIONAL	27
3.3 ÁMBITO INTERNACIONAL.....	28
IV. HIPÓTESIS	33
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
5.1 LUGAR DE EJECUCIÓN	34
5.2 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	34
5.3 VARIABLES	34
5.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	35
5.5 MUESTREO	35
5.6 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS.....	37
5.7 ASPECTO ÉTICO:.....	43
VI. RESULTADOS.....	45

6.1	PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	45
6.2	ANÁLISIS DE FRECUENCIAS.....	47
6.3	ANALISIS DE PRUEBA DE NORMALIDAD	54
6.4	CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS	54
6.5	ANÁLISIS DE DIFERENCIAS.....	58
VII.	DISCUSION.....	62
VIII.	CONCLUSIONES.....	66
IX.	RECOMENDACIONES.....	67
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
XI.	ANEXOS.....	77
11.1	ANEXO 1: FICHA DE IDENTIFICACIÓN Y REGISTRO DE DATOS DE LOS INDIVIDUOS.....	77
11.2	ANEXO 2: MATRIZ DE CONSISTENCIA PARA ASEGURAR LA COHERENCIA EN EL PLAN DE TESIS	79

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar si hay diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica, inoculada por vía subcutánea e intraesplénica en ratas. Asimismo, se evaluó si la anestesia, la concentración del fármaco y el peso influyen en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica en las dos vías mencionadas. La experimentación se realizó en 15 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) de la cepa Holtzman, adquiridas en el bioterio de la Fundación para el Desarrollo Agrario del distrito de La Molina; los animales fueron separados en grupos de 5 animales cada uno, los cuales se reutilizaron tras 2 semanas de descanso entre procedimientos, de tal manera que en total hubieron 6 grupos experimentales cada uno. Cada grupo fue sometido a tratamientos diferentes: al primer grupo se le inoculó fluoresceína al 1% por vía intraesplénica bajo anestesia general; al segundo grupo se le inoculó fluoresceína al 0.5% por vía intraesplénica bajo anestesia; al tercer grupo se le inoculó fluoresceína al 1% por vía subcutánea bajo anestesia; al cuarto grupo se le inoculó fluoresceína al 0.5% por vía subcutánea también bajo anestesia; finalmente, los grupos quinto y sexto no recibieron anestesia: al quinto grupo se le inoculó fluoresceína al 1% por vía subcutánea y al último grupo (sexto) se le inoculó fluoresceína al 0.5% por vía subcutánea. Se recopilaron los resultados en tablas y se realizó el procesamiento estadístico mediante las pruebas de Kruskal Wallis, seguida de la prueba Duncan para determinar entre qué grupos existía diferencia estadística. Los resultados no mostraron asociación en cuanto a la concentración del fármaco ni el peso de los animales, pero si se encontró diferencia estadística en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica en ratas que fueron inoculadas de manera subcutánea e intraesplénica bajo anestesia versus las que no fueron inoculadas bajo anestesia, concluyendo que la anestesia es un factor determinante en la prolongación del tiempo de la excreción urinaria de este fármaco.

Palabras Clave: fluoresceína sódica, excreción urinaria, vía subcutánea, vía intraesplénica.

ABSTRACT

This research aimed to determine whether there is a difference in the urinary excretion time of sodium fluorescein, inoculated subcutaneously and intra-splenically in rats. Additionally, the study evaluated whether anesthesia, drug concentration, and weight influence the urinary excretion time of sodium fluorescein in the two ways mentioned. The experimentation was performed on 15 albino rats (*Rattus norvegicus albinus*) of the Holtzman strain, acquired from the bioterium of the Foundation for Agricultural Development of the La Molina district. The animals were separated into groups of 5 animals each, which were reused after 2 weeks of rest between procedures so that there were a total of 6 experimental groups each. Each group was subjected to different treatments: the first group was inoculated with 1% fluorescein intra-splenically under general anesthesia; the second group was inoculated with 0.5% fluorescein intra-splenically under anesthesia; the third group was inoculated with 1% fluorescein subcutaneously under anesthesia; the fourth group was inoculated with 0.5% fluorescein subcutaneously also under anesthesia; finally, the fifth and sixth groups did not receive anesthesia: the fifth group was inoculated with 1% fluorescein subcutaneously and the last group (sixth) was inoculated with 0.5% fluorescein subcutaneously. The results were compiled in tables and statistical processing was performed using the Kruskal-Wallis test, followed by the Duncan test to determine between which groups there was a statistical difference. The results showed no association between drug concentration and animal weight. Still, a statistical difference was found in the urinary excretion time of sodium fluorescein in rats that were inoculated subcutaneously and intra-splenically under anesthesia versus those that were not inoculated under anesthesia, concluding that anesthesia is a determining factor in prolonging the urinary excretion time of this drug.

Keywords: sodium fluorescein, urinary excretion, subcutaneous route, intra-splenic route.

I. INTRODUCCIÓN

La fluoresceína sódica es un colorante sintético que exhibe una fluorescencia de un tono amarillo verdoso brillante (National Center for Biotechnology Information, 2019). Actualmente, este compuesto tiene múltiples aplicaciones en diversos campos, aunque nos centraremos en proporcionar un breve resumen de sus usos en medicina veterinaria. En este ámbito, la fluoresceína sódica se emplea principalmente tópicamente en oftalmología para la detección de úlceras corneales y para evaluar la funcionalidad del conducto nasolagrimal (Baraboglia, 2009). Aunque su administración intravenosa es poco común, se utiliza en angiografía retiniana y procedimientos quirúrgicos, habiéndose incorporado recientemente para evaluar la perfusión sanguínea en distintos órganos. La administración subcutánea y oral se utilizan para su detección en la orina, ya que la fluoresceína sódica es excretada en gran medida a través del riñón, lo que provoca un tinte fluorescente en la orina. Esta propiedad se emplea para la detección de marcajes en orina, por ejemplo, en identificación de gatos marcadores, así como para detectar posibles trastornos urinarios en áreas de alta densidad animal; además, se utiliza como marcador urinario en parches de orina en vacas (Mentzel, 1999; Hart y Leedy, 1982; Neilson, 2002; Gusmão, et al., 2015). También se está explorando su uso *in vivo* en órganos para evaluar aspectos como su integridad, viabilidad y circulación. En el contexto peruano, la fluoresceína sódica se emplea en diversas áreas de la medicina veterinaria, especialmente en oftalmología, debido a su accesibilidad, bajo coste y rápida acción (Bezold, 2010).

En el contexto de las vías de administración de medicamentos, se utilizan dos clasificaciones principales: las enterales y las parenterales. En las vías enterales, el fármaco se absorbe a través del tracto digestivo después de ser administrado por vía oral, sublingual o rectal. Por otro lado, las vías parenterales procuran la absorción del fármaco evitando el paso por el sistema

digestivo, e incluyen opciones como la vía pulmonar, intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraarterial, intraperitoneal, intracardiaca, intratecal, epidural, entre otras. Las vías parenterales presentan la ventaja de actuar de manera más rápida que las enterales, acelerando así su eliminación. Además, las vías de administración pueden subdividirse en intravasculares y extravasculares, siendo las intravasculares aquellas que ingresan directamente a un vaso sanguíneo, mientras que las extravasculares engloban las vías oral, subcutánea, intramuscular y pulmonar (Buxton, 2012; Botana, 2002; Sumano, 2006). A raíz del progreso en la investigación médica, se han desarrollado nuevas vías de administración de medicamentos. Algunas de estas vías han ganado popularidad en la práctica clínica, mientras que otras son menos conocidas y se aplican en ámbitos especializados y/o con propósitos investigativos. En este contexto, nos enfocaremos en comparar dos vías en medicina veterinaria: la vía subcutánea, ampliamente utilizada, con la poco difundida vía intraesplénica, la cual ha sido objeto de estudio desde hace más de 50 años (Rousselot et al., 1953) debido a su conexión directa con el sistema venoso portal. Esta vía intraesplénica se emplea en diagnósticos por imagen con medios de contraste, aunque actualmente su aplicación es limitada (Gomez de Ochoa et al., 2011).

El proceso que experimenta un fármaco en el organismo se rige por 4 estadios: absorción, distribución, metabolismo y excreción. La absorción de los fármacos puede variar según la vía de administración utilizada, la forma de dosificación del medicamento y las propiedades fisicoquímicas del fármaco en cuestión. En vías parenterales que se administran de forma extravascular, la velocidad de absorción está influenciada por el nivel de irrigación capilar en el lugar de administración y la capacidad del fármaco para disolverse en el líquido intersticial (Buxton, 2012; Botana, 2002; Sumano, 2006).

A finales del año 2018, un grupo de investigación de la Universidad Ricardo Palma liderado por Bezold realizó un estudio sobre esplenoportografía fluorescénica en 15 ratas albinas,

(Bezold *et al.*, datos no publicados), en el cual la autora del trabajo actual participó. En dicha investigación se tenía como objetivo medir el tiempo de excreción urinaria en intervalos de 2 horas, aunque finalmente se logró medir en intervalos más cortos. Durante el estudio, se planteó la pregunta de si el tiempo de excreción estaba influenciado por la vía de administración utilizada, la concentración del fármaco, el peso de los animales y por la necesidad de utilizar anestesia para el procedimiento. Con tal motivo, tras completar la fase experimental de la investigación original, y con la autorización del responsable del bioterio de la Facultad de Ciencias Biológicas y de la directora de la investigación original, se decidió abordar estas incógnitas comparando la vía de administración inicial con una vía alternativa que potencialmente no requiriera anestesia. En este caso, se eligió la vía subcutánea debido a su facilidad de aplicación.

El objetivo de este estudio es detectar posibles diferencias en los tiempos de excreción urinaria de fluoresceína sódica administrada mediante vía subcutánea y vía intraesplénica. Asimismo, se pretende determinar si estas posibles diferencias están relacionadas con la concentración del fármaco, el peso de los sujetos de estudio o la utilización de anestesia en los casos donde sea requerida.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es escasa la información existente sobre el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica en animales domésticos, y en roedores en particular, por lo cual no se tienen valores de referencia fiables que nos permitan conocer si un paciente en particular tiene algún retraso en su excreción. Dado que las ratas albinas son comúnmente utilizadas en investigaciones científicas, la obtención de estos datos permitirá establecer rangos de referencia para los tiempos de excreción esperados a través de las vías de administración subcutánea e intraesplénica. Estos datos servirán como base para estudios futuros que involucren esta sustancia, contribuyendo así al avance del conocimiento en esta área de investigación.

El propósito de la presente investigación es determinar y evaluar las diferencias en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica administrada a través de dos vías, subcutánea e intraesplénica, en ratas albinas, dado que se carece de información sobre el tiempo de excreción de este compuesto en este tipo de animales. Además, se pretende identificar la posible influencia de la concentración de fluoresceína utilizada, el peso de los animales y el potencial efecto de la anestesia en aquellos sujetos que requieran ser anestesiados. Esta investigación contribuirá a expandir el conocimiento sobre el uso de la fluoresceína sódica en medicina veterinaria y a sentar las bases para futuros estudios en este campo.

La presente investigación se llevó a cabo mediante el procesamiento de datos obtenidos a partir de la experimentación realizada en ratas albinas en el período 2018 – 2019, la cual se evaluó la relación entre el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína con respecto a la vía de administración utilizada, entre otras variables, como el peso, la anestesia y la concentración.

La pregunta de nuestra investigación fue: ¿Existe relación entre en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína y la vía de administración utilizada?

1.1 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación busca determinar si hay diferencia significativa en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína administrada en ratas albinas en dos vías de administración diferentes, y si los factores como el peso, la anestesia y la concentración del fármaco intervienen en el tiempo de excreción, existiendo escasos estudios que se han hecho al respecto en Perú.

Como dato tenemos que una investigación realizada en el 2014 en cuyes, determinó que la excreción de la fluoresceína en orina ocurrió dentro en un rango de 6 – 16 horas tras la inoculación en el sistema venoso portal a través de una vena yeyunal, bajo anestesia (Bezold, 2014). En caninos, tras la administración intravenosa la excreción urinaria total se produce 24-36 horas tras la administración endovenosa y en el caso de gatos esta se produce dentro de las 24 horas tras su administración oral o subcutánea. (Cimino Brown, 2006; Mentzel, 1999).

Se comprobó la excreción urinaria de la fluoresceína bajo la luz UV (Lámpara de Wood), mostrando así su fluorescencia en la fluoresceína excretada. Existen varios estudios donde se ha utilizado la lámpara de Wood para determinar mediante fluorescencia la excreción de la fluoresceína en orina. Existen estudios del uso de ésta lámpara en cuyes (Bezold, 2014) y en vacas (Gusmão *et al*, 2015).

Actualmente se desconocen datos de la excreción urinaria de la fluoresceína sódica inyectada en ratas; con esta investigación podremos tener datos que nos servirán para determinar el promedio de acuerdo a la vía de administración y la concentración utilizada, lo cual permitirá extrapolarlo y compararlo con otros datos en animales y humanos, ya que la fluoresceína sódica como complemento en métodos diagnósticos está siendo usada cada vez más.

Con los resultados obtenidos en el presente estudio, podremos determinar si los factores estudiados intervienen significativamente en la excreción urinaria de este fármaco en las ratas, de tal manera que, conociendo las potenciales variaciones, esto nos ayudaría en un futuro a tener un mayor conocimiento y eventualmente controlar dichos factores asociados a la variación. Asimismo, los datos obtenidos en el presente estudio podrán servir de referencia en futuras investigaciones que utilicen fluoresceína en ratas y otras especies domésticas con fines médicos.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General

Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea en ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea en ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) en función a la concentración utilizada del colorante.
- Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea en función a la anestesia en ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*).
- Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea en función al peso en ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 FLUORESCÉINA

La fluoresceína es un colorante sintético de uso médico que tiene la propiedad de ser fluorescente. Fue descubierto en 1871 por el químico alemán Adolf Johann Von Baeyer (Mchdlov-Petrossyan, 2004).

2.2 FLUORESCÉINA SÓDICA

En medicina se utiliza la fluoresceína sódica, llamada también uranina o resorcinoftaleína sódica; la diferencia está en la composición y las propiedades químicas; la fluoresceína sódica es una sal disódica de la fluoresceína, es decir, tiene dos átomos de sodio (Na) en su composición y es soluble en agua, cosa que la fluoresceína no lo es. En esta investigación nos centraremos en la fluoresceína sódica (National Center for Biotechnology Information, 2019).

2.2.1 ESTRUCTURA QUÍMICA

Se sintetiza a partir de dos compuestos derivados del petróleo, el resorcinol y el anhídrido ftálico, produciendo la fluoresceína. A ésta se le agrega dióxido de sodio, formando la sal disódica de la fluoresceína llamada fluoresceína sódica. Pertenecce al grupo de los xantenos. Su fórmula química es $C_{20}H_{10}O_5Na_2$ (National Center for Biotechnology Information, 2019).

2.2.2 CARACTERÍSTICAS

2.2.2.1 Características físicas

La fluoresceína sódica es un polvo higroscópico de color rojo anaranjado, inodoro, que al mezclarse con agua y exponerse a luz ultravioleta alcanza su mayor fluorescencia, mostrando un color amarillo verdoso brillante. Como solución, a mayor concentración el color es amarillo a anaranjado y, a menor concentración, o sea más diluida, será de un color verde (CAMEO, 2016; Jampol y Cunha-Vaz, 1984).

2.2.2.2 Características químicas

Es un álcali fuerte; su pH es de 8.0 a 9.8, por esta razón reacciona con los álcalis y el amoníaco generando una intensa fluorescencia amarilla verdosa; en pH ácidos y neutros no hay reacción absoluta (Jeff, 1992; CAMEO, 2016). Es soluble en agua y en disolventes polares, ligeramente soluble en etanol y su peso molecular es de 376 (Romanchuk, 1982).

2.2.3 FLUORESCENCIA

La fluorescencia de la fluoresceína sódica se debe al fenómeno de la luminiscencia; este se fundamenta molecularmente: las moléculas fluorescentes, al absorber energía luminosa en forma de radiación electromagnética, ocasionan una excitación de electrones llamado estado excitatorio; rápidamente después los electrones vuelven al estado normal, emitiendo energía a través de la fluorescencia. La fluorescencia emitida tiene una particularidad, la longitud de onda emitida es diferente a la longitud de

onda absorbida, esto quiere decir que la energía absorbida es mayor que la energía emitida a través de la fluorescencia. Por lo tanto, mientras más intensa sea la fuente de luz, la fluorescencia será mayor, todo depende de la energía a absorber (Jeff, 1992).

Los principales factores que afectan la intensidad fluorescente son: la unión a proteínas, la presencia de hemoglobina que es este caso suprime el efecto fluorescente, el pH de la solución, entre otros (Jampol y Cunha-Vaz, 1984).

2.2.4 FARMACOCINÉTICA DE LA FLUORESCEÍNA SÓDICA

La farmacocinética se rige por 4 procesos: absorción, distribución, metabolismo y excreción, procesos que dependen de las propiedades químicas del fármaco y de la fisiología de cada especie (Buxton, 2012; Botana, 2002; Sumano, 2006).

El proceso de absorción consiste en el paso del fármaco desde el sitio de la administración hasta llegar a circulación sanguínea o capilares linfáticos, a través de su paso en las membranas (Buxton, 2012; Botana, 2002; Sumano, 2006). Cuando la fluoresceína es administrada por vía oral, es absorbida en mucosa gastrointestinal y es llevada a circulación sanguínea. Un estudio en humanos reveló que la vida media de la fluoresceína en el sistema gastrointestinal es de 53 minutos (Grotte, 1985). En caso de la administración subcutánea, esta es paulatina y se logra gracias a la gradiente de concentración entre el punto de inoculación y el plasma, tratándose de una sustancia hidrosoluble y sin efectos irritantes a los tejidos (Cole, 2005). Algo similar ocurre en la vía intraesplénica, siendo el parénquima del bazo rico en vasos capilares, los cuales drenan hacia la vena esplénica. (Alvinerie, 1993).

El siguiente proceso consiste en el desplazamiento del fármaco presente en el plasma sanguíneo hacia los tejidos. En el caso de la fluoresceína sódica, como es una molécula pequeña y altamente soluble en agua, se difunde rápidamente en el plasma desde los capilares hacia los tejidos extravasculares corporales. Una investigación en cerdos de Kuneš *et al.* (2010) determinó que la fluoresceína tiene una alta concentración en el sistema renal, seguido de la bilis, luego el pulmón, el tejido adiposo, y todos los demás órganos; en el cerebro tiene una distribución muy mala, por la baja capacidad de penetrar la barrera hematoencefálica. En el plasma una parte de la fluoresceína se va a unir a la albúmina, produciendo una baja fluorescencia versus la fluorescencia de la fluoresceína libre (Kuneš, *et al.*, 2010).

El metabolismo tiene como propósito facilitar la eliminación del fármaco y la disminución de su actividad, mediante la transformación química del compuesto farmacológico en partes más simples llamados metabolitos. El metabolismo es llevado a cabo por enzimas isoformas P450 y de varias transferasas (Buxton, 2012), mayormente ubicadas en el hígado, pero puede ocurrir en diferentes tejidos como en el aparato digestivo (mucosa intestinal), riñones y pulmones (Botana, 2002). En el caso de la fluoresceína libre en plasma, al llegar al hígado se metaboliza a través del sistema enzimático hepático; un estudio de Webb y Hansen (1961) realizado en ratas, reveló que la fluoresceína sufre desetilación en el hígado; después se conjuga con el ácido glucurónico, formando monoglucoronido de fluoresceína, un metabolito más polar, por lo tanto, menos liposoluble que la fluoresceína (Webb y Hansen, 1961). El monoglucoronido de fluoresceína fue descrito por Chen *et al.* (1980); refieren que éste tiene la propiedad de ser fluorescente; cabe aclarar que este metabolito es menos fluorescente que la fluoresceína, posee tan solo un 4.5% de la fluorescencia de la fluoresceína (Chen *et al.*, 1980). Los estudios de Dollery (1999) y Chahal *et al.* (1985),

revelaron que, tras inyectar la fluoresceína intravenosa, al cabo de 2 minutos ya había indicios de glucuronidación, debido a su primer paso a través del hígado, y ya a los 60 minutos post administración, más del 80% de la fluoresceína estaba conjugada a glucurónico (Dollery, 1999) (Chahal *et al.*, 1985).

El monoglucurónido de fluoresceína es liberado por el hígado, una parte a través de la bilis hacia el intestino para ser excretado a través de las heces y, la otra parte, vía principal, a través de la sangre para ser excretado por el riñón. En sangre, este metabolito, según un estudio de Blair *et al.* (1986), no tiende a formar un enlace fuerte con la albúmina, a comparación con la fluoresceína (Blair *et al.*, 1986). Un estudio de Chahal *et al.* (1985) indicó que el 31% del monoglucurónido de fluoresceína se encontraba libre en comparación con el hecho de que cuando la fluoresceína se encontraba en plasma, un 9% permanecía libre (Chahal *et al.*, 1985). Pero un estudio de Grotte *et al.* (1985) reveló que el 82- 86% del monoglucurónido de fluoresceína estaba ligado a proteínas (Grotte *et al.*, 1985).

El último proceso farmacocinético es la excreción del fármaco, el cual consiste en la eliminación del fármaco intacto o de sus metabolitos. El cuerpo tiene diferentes vías de eliminación del fármaco; el principal y más importante órgano es el riñón que, a través de la orina, va eliminando los compuestos farmacológicos; otras vías de excreción son la bilis, la saliva, la leche y el aire inspirado (Botana, 2002). En el caso de la fluoresceína, convertida en monoglucurónido de fluoresceína una parte, y otra siendo fluoresceína, será excretada por dos vías; renal y biliar, siendo la principal la renal. En la vía renal, será eliminada a través de la orina. Un estudio realizado en ratas por Webb *et al.* (1962), refiere que la fluoresceína administrada en ratas fue recuperada en un 90 a 100% en orina y se requirió 8 días para la total eliminación. El estudio de Kunes *et al.* (2010) realizado

en cerdos demostró que la eliminación de la fluoresceína en sangre es de 38 minutos (Kunes *et al.*, 2010). El estudio realizado por Bezold en cuyes obtuvo tiempos de excreción en orina que fluctuaron entre 6 a 16 horas (Bezold, 2014). En humanos, el estudio de Grotte *et al.* (1985) calculó la depuración renal de la fluoresceína y ésta fue 1,75 ml/min/kg y la depuración renal del glucurónido de la fluoresceína es de 0,76 ml/min/kg (Grotte *et al.*, 1985).

2.2.5 EFECTOS ADVERSOS Y TOXICOLOGÍA DE LA FLUORESCEÍNA

A lo largo del tiempo se han realizado diferentes investigaciones sobre posibles efectos adversos de la fluoresceína sódica. A continuación, pondremos los datos relevantes.

El estudio de Yannuzzi *et al.* (1986) realizado en humanos sometidos a angiografía clasifica los efectos adversos de la fluoresceína en tres niveles: leve, moderado a grave, y mortales. Los leves corresponden a náuseas, vómitos y respuesta vasovagal, que producen aturdimiento; estas reacciones son transitorias y generalmente duran de segundos a minutos. Las reacciones moderadas incluyen urticaria, síncope (desmayo), flebitis (inflamación vascular), necrosis cutánea localizada y parálisis nerviosa localizada. Las reacciones graves ameritan atención médica inmediata, ya que pueden poner en peligro la vida; involucran enfermedades cardiovasculares (por ejemplo, shock de tipo anafiláctico, hipotensión, colapso cardiovascular), neurológicas (por ejemplo, convulsiones), respiratorias (por ejemplo, paro respiratorio o edema pulmonar agudo). Con mayor incidencia se presentan los signos leves, luego le siguen las reacciones

moderadas, donde hay signos manifiestos de una posible reacción anafiláctica, por reacción alérgica; cabe mencionar que los pacientes con antecedente de alergia son los más susceptibles a esta reacción, se cree además que estas reacciones son debido una respuesta inmunológica del huésped a la unión del fármaco con la proteína. La investigación de Stein y Parker en 1971, revelaron que el 0,6% de los pacientes humanos sometidos a angiografía, presentaron reacciones adversas. Y un 67.3% de los casos se consideraron de tipo alérgico.

Karhunen, Raitta y Kala (1986) revisaron las reacciones adversas en pacientes que se habían hecho angiografías con fluoresceína durante 9 años. Las náuseas (4,6%) y los vómitos (1,3%) fueron las reacciones adversas más comunes. Las manifestaciones alérgicas de la piel ocurrieron en un 0.5%, y el 0.05% de los pacientes se quejaron de falta de aliento.

Lipson y Yannuzzi (1989), informaron que, en casi 30 años de uso clínico, la inyección intravenosa de la fluoresceína ha demostrado ser un procedimiento bastante seguro. Se concluyó que en 1 de 1900 pacientes sometidos a angiografía, se producen complicaciones cardiovasculares, respiratorias y neurológicas. Pero James en 1996, mencionó en su libro que la incidencia de reacciones graves fue de 1 en 18.020, y la de reacciones fatales fue de 1 en 49.557.

En la investigación de Scavone y Fraser (1983) se menciona que la administración intratecal también ha generado efectos adversos como debilidad de las extremidades inferiores, entumecimiento, actividad convulsiva generalizada, opistótomos, déficit de nervios craneales y meningitis química aséptica con irritación generalizada del sistema nervioso central.

Podemos concluir que la administración de fluoresceína, indistinta a la vía de administración, puede generar efectos adversos, pero la incidencia es baja. Se da mayormente en la administración endovenosa, en más del 50% de los casos debido a una reacción alérgica.

Un estudio de Salem *et al.* (1979) evaluó en ratas los potenciales tóxicos y teratogénicos de la fluoresceína sódica, y concluyeron que la fluoresceína sódica no parece presentar ningún riesgo significativo cuando se administra durante el embarazo y se sugiere también que no tiene potencial teratogénico aparente, a pesar que atraviesa la barrera placentaria (Salem *et al.*, 1979). En la investigación de Dollery (1999), se dio a conocer que la fluoresceína sódica no produce efectos cancerígenos (Dollery, 1999).

Gracias a la investigación de Yankell y Loux en 1977, se dio a conocer la dosis letal de la fluoresceína sódica administrada por vía oral en ratones y ratas; el resultado fue para ratones 4738 mg/kg y para ratas 6721 mg/kg, manifestando signos de toxicidad, principalmente signos neurológicos, ya que hay depresión del sistema nervioso central. Además, se evidenció que, durante la preñez, el feto y la hembra preñada no presentan riesgo significativo (Yankell y Loux, 1977). En la revisión bibliográfica que realizó Ken-ichiro O'goshi y Jorgen Serup (2006) sobre los efectos toxicológicos y adversos de la fluoresceína, menciona que la DL50 de la fluoresceína sódica para ratones es 2200 mg/kg, para ratas es 600mg/kg y para conejos es 300 mg/kg (O'goshi y Serup, 2006).

2.3 SISTEMA VENOSO PORTAL DE LA RATA

Los estudios citados proporcionan información detallada sobre la circulación venosa en el sistema esplénico y portal en la rata. Según Braithwaite y Adams en 1957, los sinusoides venosos del bazo de la rata desembocan en venas colectoras de la pulpa, que luego se unen en

venas trabeculares para formar el tronco venoso esplénico principal. Este tronco venoso se une a la vena mesentérica craneal, la cual forma parte de la vena porta. (Braithwaite y Adams, 1957)

Por otro lado, el estudio de Gontijo et al. en 2014 menciona la existencia de una circulación venosa entre el estómago y el bazo a través de los vasos gastroesplénicos (Gontijo *et al.*, 2014). En el 2007, Martins y Neuhaus, alegan que la vena porta se forma por la unión de las venas: mesentérica craneal, gastroesplénica y gastroduodenal.

Además, el estudio del 2016 realizado por Vdoviakova et al. describe que el tronco principal de la vena porta se divide en ramas derecha e izquierda, con la rama derecha irrigando los lóbulos mediales y laterales derechos, así como el lóbulo caudado. Por otro lado, la rama izquierda contribuye a las porciones lateral y medial del lóbulo izquierdo y al lóbulo cuadrado, considerándose como la continuación principal de la vena porta.

Estos estudios proporcionan una visión amplia y detallada de la circulación venosa en el sistema esplénico y portal de la rata, incluyendo las interconexiones entre diferentes vasos sanguíneos que contribuyen a la irrigación de los órganos involucrados en este sistema. (Vdoviakova *et al.*, 2016)

2.4 ANATOMÍA DEL BAZO DE LA RATA

La descripción anatómica del bazo en ratas proporciona detalles importantes sobre su estructura y ubicación en el cuerpo de estos animales. En rata, el bazo es un órgano alargado y ligeramente aplanado, con bordes redondeados. En ratas adultas, su tamaño puede variar entre 30 y 50 mm de largo y aproximadamente 10 mm de ancho.

Anatómicamente, la superficie dorsal del bazo se encuentra adyacente al diafragma y al hígado, mientras que la superficie ventral se relaciona con la pared abdominal. El suministro arterial al bazo proviene de la arteria esplénica, la cual se divide en varias ramas antes de penetrar en el parénquima esplénico. Estas ramificaciones se distribuyen a la pulpa roja y a los folículos linfoides, donde se originan los capilares foliculares.

El drenaje venoso en el bazo se produce a través de los sinusoides de la pulpa roja, los cuales desembocan en vénulas que se unen en venas trabeculares. Estas venas finalmente forman la vena esplénica, que se une a la vena porta. Esta descripción detallada de la anatomía del bazo en ratas es fundamental para comprender su fisiología y para la realización de procedimientos que involucren este órgano en modelos experimentales y de investigación (Suttie, 2018).

2.5 VIA INTRAESPLÉNICA

La vía de inyección intraesplénica ha sido descrita en la literatura desde mediados del siglo XX, especialmente en el campo de la investigación médica (Rousselot *et al.*, 1953). En aquel entonces, su uso estaba limitado debido a la falta de técnicas de imagen como la ecografía, la cual facilita en la actualidad la localización anatómica del bazo sin requerir un abordaje quirúrgico (Gomes de Ochoa *et al.*, 2011)..

Esta vía de administración permite la inyección de sustancias que, al aprovechar el drenaje venoso hacia la circulación portal, posibilitan la realización de pruebas con agentes de contraste, la entrega de fármacos e incluso terapias celulares hacia el hígado. Se puede realizar mediante visualización directa del bazo tras un abordaje quirúrgico abdominal o de manera percutánea con el apoyo de la ultrasonografía. (Gomez de Ochoa *et al*, 2011)

Se ha demostrado la utilidad de esta vía en el estudio de patologías del sistema venoso portal, como los shunts porto-sistémicos y las trombosis, y también se ha empleado en investigaciones relacionadas con el cáncer. Esta técnica ofrece una alternativa efectiva para la administración de sustancias terapéuticas y la exploración de enfermedades hepáticas y vasculares en modelos experimentales y en investigación clínica. (Echevarria *et al.*, 2009; González Arribas, 2018).

III. ANTECEDENTES

La fluoresceína sódica usada en la experimentación animal, tiene un amplio historial de investigaciones en diferentes especies animales con diversos fines, tanto médicos o como herramienta para detectar sitios de micción. (Gusmão,2015).

La fluoresceína sódica fue utilizada por primera vez en 1882 por Paul Ehrlich, quien descubrió su utilidad para detectar defectos corneales. En 1961 se describió la angiografía con fluoresceína con la finalidad de conocer la fisiopatología retiniana; ya en el siglo XX, se dio a conocer su aplicación en cirugía, como su utilización en procedimientos angiográficos. (Mchdlov-Petrossyan, 2004; Bezold, 2010).

3.1 MEDICINA VETERINARIA

En medicina veterinaria se usa principalmente en el área de oftalmología como herramienta en exámenes diagnósticos; su aplicación tópica es utilizada para detectar úlceras corneales, evaluando la integridad de la superficie de la córnea y además es comúnmente usada para evaluar la función del conducto nasolagrimal (Baraboglia, 2009; Shiraya y Nagataki, 1998). Su aplicación intravenosa es poco frecuente, ya que se utiliza en casos de angiografía retiniana, pero se está conociendo las diferentes ventajas que muestra la fluoresceína en la evaluación de la perfusión sanguínea en otros órganos (Bezold, 2010).

Estudios muestran la utilidad de la fluoresceína en el área de cirugía, por ejemplo, en la detección de fístulas o perforaciones en órganos huecos, en la evaluación de la viabilidad intestinal en una enterectomía, en la visualización de las vías biliares, en la evaluación de la circulación portal, en la detección de uroperitoneo, en la evaluación del cierre quirúrgico de

vísceras huecas y por último, en el área de cirugía reconstructiva, para la determinación de límites de amputaciones, entre otras aplicaciones. (Bezold, 2010)

No solo es útil en mamíferos; su uso se extiende a otros vertebrados, por ejemplo, sirve como herramienta en la detección de úlceras cutáneas en el pez (Marcusso *et al.* 2014).

3.2 ÁMBITO NACIONAL

En Perú, Bezold (2014) realizó un procedimiento de portografía en cuyes (*Cavia porcellus*), utilizando como herramienta la fluoresceína sódica. Trabajó con 20 cuyes machos procedentes de un mismo criadero, con edades y pesos similares, los que fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos experimentales, donde el primero (A) fue el grupo control y recibió como tratamiento cloruro de sodio 0.9%, el segundo grupo (B) recibió fluoresceína sódica al 0,1%, el tercero (C) recibió fluoresceína sódica al 0,5% y el cuarto (D) recibió fluoresceína sódica al 1%. Los animales fueron sometidos a celiotomía, donde se les inyectó la fluoresceína o el cloruro de sodio a través de una vena yeyunal por medio de un catéter número 24 USP; la dosis utilizada fue de 2 ml/kg de peso vivo. Se registraron los datos de la hora de inoculación, el área y la intensidad de la tinción del parénquima hepático, el tiempo transcurrido a la máxima tinción del hígado y el tiempo de excreción en orina; el grado de tinción del hígado fue contrastado con la lámpara de Wood. En los resultados y conclusiones encontramos que la inoculación de fluoresceína sódica a través de una vena yeyunal tiene una alta distribución en el hígado, coloreando el 95% a más del parénquima hepático, alcanzando la máxima tinción del hígado en 30 – 60 segundos tras la inoculación; también se concluyó que las concentraciones de 0,5% y 1% de fluoresceína sódica lograron el máximo nivel de intensidad de tinción por igual, por lo que se determinó que independientemente a la concentración utilizada, la distribución en el parénquima hepático fue igual de eficaz. Además, ambas

concentraciones, fueron igualmente eficaces para demostrar la viabilidad de la circulación portal. Con respecto a la excreción de la fluoresceína en orina, se menciona que fue de 6 – 16 horas post inoculación y fue contrastada con la luz de la lámpara de Wood. Cabe señalar que se demostró la seguridad e inocuidad en la utilización de diversas concentraciones de fluoresceína por la vía intravenosa portal en cuyes.

3.3 ÁMBITO INTERNACIONAL

En Estados Unidos, Weeb, Fonda y Brouwer (1962) estudiaron el metabolismo y los patrones de excreción de la fluoresceína y otros 11 colorantes derivados halogenados de fluoresceína en ratas. Para la primera experimentación se utilizaron ratas Osborne-Mendel, machos, de 200 – 225 gr cada una; después de un ayuno prolongado de 18 horas se les administró, mediante sonda gástrica, diferentes dosis de fluoresceína de manera espaciada, la dosis iba de 0.5 – 500 mg/kg. En un periodo de 2 – 4 horas post administración se recolectaron muestras de orina de cada rata, y en otro grupo de ratas se recolectaron muestras de bilis, para este procedimiento los conductos biliares fueron previamente canulados bajo anestesia; la bilis fue recolectada durante las primeras 2 horas post administración. Las muestras se examinaron mediante cromatografía, en busca de los colorantes y sus metabolitos. Para la segunda experimentación para estudiar la excreción, se utilizaron ratas macho de 300 a 325 g y se canularon los conductos biliares bajo anestesia, luego se les administró fluoresceína intravenosa a 3 mg/kg, se obtuvieron muestras de bilis y orina en las primeras 2 horas. Las muestras fueron examinadas mediante espectrofotometría para determinar las concentraciones del colorante. El tercer experimento tuvo como fin conocer que tanto se recuperan los tintes en la excreción; se hizo una comparación del porcentaje inoculado versus el excretado; para este experimento se utilizaron ratas macho de 200 a 225 gramos, se les administró fluoresceína a dosis de 500 – 250 mg/kg a través de una sonda gástrica, se recogieron muestras de orina y

heces hasta que estos no muestren rastros de los colorantes. Para este experimento se utilizó la espectrofotometría. Los resultados arrojaron que a mayor halogenación de los colorantes hay una mayor excreción biliar, por lo tanto, una menor excreción urinaria. Además, los datos mostraron que la excreción es más rápida en compuestos más halogenados; la excreción total del colorante ocurrió de 5 a 8 días y se concluyó que la excreción de estos tintes a través de la orina y heces, llegan a recuperarse entre un 95 – 100%. Un dato curioso de este estudio demuestra que la mayor toxicidad se dio en compuestos halogenados simples.

En Japón, la investigación de Chen, Nakamura y Tamura (1979) tuvo como propósito estudiar los metabolitos de la fluoresceína encontrada en orina de seres humanos y de conejos. A los conejos se les administró 25 mg de fluoresceína vía endovenosa y luego se les sometió a cirugía donde se bloqueó la circulación enterohepática para luego canular el conducto biliar, con la ayuda de la cromatografía en capa fina de dos dimensiones, demostrando la presencia de fluoresceína y de su metabolito monoglucorónido de fluoresceína.

El estudio de Gusmão, Alves, Lemes, Bettioli, Pedroso, Barioni, Oliveira y Grego realizado en Brasil en el 2015, utilizó la fluoresceína sódica como marcador urinario en vacas, para mostrar la ubicación de la orina en las pasturas. Se realizaron tres ensayos con el objetivo de: evaluar el efecto de la dilución y el volumen de aplicación sobre la fluorescencia de la fluoresceína sódica en el medio ambiente; probar las dosis y la duración de la excreción de la fluoresceína sódica administrada por vía oral al ganado; y validar la metodología para el uso de fluoresceína sódica en la ubicación de la orina del ganado en las pasturas. Con este estudio se determinó la localización de los sitios para orinar, el número de micciones/animal/día y el área cubierta por la orina. Se llevaron a cabo tres ensayos secuenciales, uno para definir la mejor dosis de fluoresceína sódica y la duración de la excreción urinaria con fluoresceína del

ganado, otro para ver la persistencia de fluorescencia de la fluoresceína sódica en el pasto y, por último, para la validación de fluoresceína sódica en la ubicación de depósitos de orina del ganado en pasturas. La detección de fluoresceína sódica en los depósitos de orina en las pasturas se dio por la utilización de una linterna de luz negra LED (Lámpara de Wood) con una longitud de onda entre 380 y 420 nm. La ubicación de fluoresceína sódica se probó en pasturas bajo tres tipos de manejo, caracterizando tres sistemas de pastoreo: pasto degradado de *Urochloa (Brachiaria) decumbens* bajo manejo extensivo; pastizales de manejo intensivo de pastizales *Panicum maximum* Jacques con alta tasa de población; y manejo intensivo de pasturas de *Panicum maximum* Jacques irrigadas con alta tasa de almacenamiento. La experimentación consistió en dar en forma de cápsula fluoresceína sódica a dosis de 50 mg/kg administrada por vía oral, una vez al día durante 2 días, a tres novillos cebú, raza Nelore, de 18 meses de edad y un peso comprendido de 450 ± 25 kg. Con esta experimentación se permitió la localización nocturna eficiente de los depósitos de orina en los pastizales mediante una linterna de luz negra o Lámpara de Wood. Como resultado del estudio, se dio a conocer que el residuo de fluoresceína sódica permaneció fluorescente en el follaje del pasto hasta 34 h después de los eventos de micción, el número promedio de micciones depositadas fue de aproximadamente 11/animal/ día, el volumen y el área cubierta por la orina variaron de acuerdo con la densidad de población y por último, la dosis de fluoresceína sódica que mejor se evaluó fue de 50 mg/kg, ya que a esta dosis no afectó negativamente a los animales cuando se administró una vez al día durante 2 días, cabe aclarar que al cuarto día consecutivo con esta dosis causó un trastorno urinario en el animal.

La dosificación de fluoresceína sódica aplicada por vía parenteral en ratas, no está documentado en vademécums o algún libro de dosificación de fármacos, por lo que se realizó una búsqueda en investigaciones realizadas en ratas, donde hayan sido inoculadas con

fluoresceína sódica. Estudios del siglo XX como el de Chen, Nakamura y Tamura en 1980, utilizaron la dosis 10 mg/kg por vía endovenosa; en otra investigación realizada por Webb, Fonda y Brouwer en 1962, utilizaron la dosis 5 mg/kg por sonda gástrica. Estudios del siglo XXI, como el de Dip, Nahmod, Suarez Anzorena, Moreira, Sarotto, Ampudia, Kalaskar, Ferraina, Rosenthal y Wexner en el 2014, utilizaron la dosis de 7 mg/kg intravenosa. En cuanto a la dosis para administración al sistema venoso portal, se dispone la experiencia de Bezold (2014) que inyectó soluciones al 1%, 0.5% y 0.1 % de fluoresceína sódica a través de una vena yeyunal en dosis de 2 ml/kg, equivalentes a 2 mg/kg, 1 mg/kg y 0.2 mg/kg respectivamente.

Echevarria, García-Alonso, Díaz, Herrero de la Parte, Miguelez, Zabalza y Fernández en España, en el 2009, trabajaron con hígados de rata, con el objetivo de inocular intraesplénicamente células tumorales de carcinoma colorrectal y observar ecográficamente en un periodo de 21, 28, 35, 42 y 70 días signos ecográficos de patología metastásica hepática. Este trabajo buscó obtener una herramienta que permitiera que el cáncer al hígado pueda ser diagnosticado ecográficamente a tiempo y sea un diagnóstico más sensible en humanos. Para esta investigación, se inoculó intraesplénicamente, y dejaron esperar 5 min después de la inoculación y retiraron el bazo para que no vaya a formar una neoplasia ahí. Como resultado obtuvieron que se detectó en un 64% las lesiones patológicas hepáticas y se identificó en un 90% de ratas afectadas por lesiones de 47 mm, en un 75% de ratas afectadas por lesiones de 3 – 7 mm y en un 25% con lesiones de 3 mm. Pero con la sonda de 6 – 18 Mhz, se llegó a detectar en un 50% las lesiones de 3 mm.

El estudio de Sepúlveda, Selamé, Roessler, Tagle y Valdivieso en Chile en el 2019, hace un resumen sobre la intoxicación con etilenglicol; muestra el conocimiento de la fisiopatología y el enfrentamiento clínico frente a estos casos. El etilenglicol es una sustancia que se expende coloreada con fluoresceína. Documenta que la incidencia en Estados Unidos por este envenenamiento es de 17.6 por 1000 habitante; siendo 5.3% debido a un alcohol tóxico. Cuando se ingiere etilenglicol, un 20% será excretado directamente por el riñón, mientras el resto será biotransformado en el hígado, para luego eliminar los metabolitos en forma de ácidos y/o sales por la orina. La vida media del etilenglicol en cuerpo es de 3 a 8,6 horas con función hepática y renal normal. Es como ayuda diagnóstica para saber si el paciente había sufrido de intoxicación al etilenglicol, Sepúlveda y sus colaboradores utilizaron la lámpara de Wood, ya que los preparados de etilenglicol generalmente contienen fluoresceína, con la finalidad de reconocer el solvente y evitar su ingestión; entonces recomiendan la evaluación de los derrames en la ropa, piel o en el análisis de orina con lámpara de Wood, ya que la fluoresceína se puede detectar en luz ultravioleta.

IV. HIPÓTESIS

- Ho: No existe diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína inoculada subcutánea e intraesplénica
- Ha: Existe diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína inoculada subcutánea e intraesplénica

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La experimentación se realizó en la Sala de Cirugía de Animales Menores de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma, ubicada en el distrito de Surco en la ciudad de Lima – Perú, entre noviembre del 2018 y enero del 2019; abarcando un periodo total de 6 semanas.

5.2 TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación siguió un método de estudio aplicativo científico y un diseño experimental con enfoque descriptivo cuantitativo, ya que se utiliza datos en función al tiempo obtenidos en la experimentación llevada a finales del 2018 e inicios del 2019 en la Sala de Cirugía de Animales menores de la Universidad Ricardo Palma donde la autora tuvo participación, con la finalidad de analizar si hay relación entre las variables propuestas.

Tiene un diseño experimental descriptivo y comparativo, donde se desea averiguar si existe diferencia entre el tiempo de excreción urinaria con respecto a la vía de administración utilizada de la fluoresceína sódica. Acorde a los resultados se evaluó la posible existencia de relación con las otras variables como el peso, la intervención de anestesia y la concentración.

5.3 VARIABLES

- Tiempo de excreción

- Vía de administración
- Concentración de fluoresceína
- Anestesiadas y no anestesiadas
- Peso del ejemplar

5.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo de Variable	Indicador	Escala de Medida	Instrumento	Categorización de la variable
Tiempo de excreción	Dependiente Cuantitativa continua	Horas y minutos	Horas y minutos, realizando observaciones cada 30 minutos	Reloj	Horas y minutos
Vía de administración	Independiente Cualitativa Nominal	Subcutáneo Intraesplénica	----	Ficha de Datos	SC e IE
Concentración de Fluoresceína	Independiente Cuantitativas discreta	0.5% 1%	----	Ficha de Datos	0.5% y 1%
Sometidas a anestesia	Independiente Cualitativa dicotómica	Si/No	Si recibió anestesia o no	Ficha de Datos	Con/sin anestesia
Peso	Independiente Cuantitativa Continua	Peso del individuo	gramos	Balanza	300– 400 g Más de 400 g

5.5 MUESTREO

Los datos utilizados para el presente estudio proceden de las observaciones realizadas en un grupo total de 15 ratas albinas (*Rattus norvegicus albinus*) de la cepa Holtzman, adquiridas en el bioterio de la Fundación para el Desarrollo Agrario del distrito de La Molina. Se emplearon como criterio de inclusión para la selección las siguientes características: que fueran machos, de 5 a 8 meses, con un peso mayor a 300 g y menor a 600 g y estén clínicamente sanos. Por lo tanto, fueron excluidas las hembras, machos menores de 4 meses y adultos, machos que

pesan menos de 300 y más a 700 gr y a los que presentaron signos clínicos de enfermedad. El rango de edad seleccionado se estableció de acuerdo a un principio fisiológico ya que, la rata a esa edad ya tiene su tamaño definido y conductualmente aún están en una edad donde la agresividad no es característica. El rango del peso seleccionado se ha fijado de acuerdo a la edad, puesto que se atribuye a una buena condición corporal.

La determinación del tamaño de muestra se basó en la fórmula de estimación de diferencia de proporciones, en donde la variable dependiente es el tiempo de excreción, asumiendo un valor de p en el grupo sin anestesia de 0.05 y de 0.8 para el grupo con anestesia, con un nivel de confianza del 90% y una potencia de 80%, obteniendo un mínimo de cuatro animales por grupo experimental para estimar si el tiempo de excreción difiere si se inyecta subcutáneo confrontada al otro grupo que se inoculaba de manera intraesplénica.

5.5.1 GRUPOS EXPERIMENTALES:

De las 15 ratas totales, se tomó al azar un primer grupo de 5 individuos (grupo A) al que se le administró fluoresceína al 1% por vía intraesplénica, bajo anestesia. De las ratas restantes, se tomó al azar otro grupo de 5 individuos (grupo B) al que se le administró fluoresceína 0.5% por vía intraesplénica, también bajo anestesia.

Con un intervalo de al menos 2 semanas, para asegurar la recuperación de los animales, otras 5 ratas (grupo C) fueron sometidas a un idéntico protocolo anestésico y se les administró fluoresceína 1% vía subcutánea. Se tomó al azar otro grupo de 5 ratas en buen estado de salud (grupo D) que fueron sometidas al mismo protocolo anestésico y se les administró fluoresceína 0.5% vía subcutánea.

Al menos 2 semanas después, se crearon aleatoriamente 2 nuevos grupos de 5 ratas en buen estado de salud, a los que se les administró vía subcutánea fluoresceína 1% sin

anestesia previa (grupo E) y fluoresceína 0.5% subcutánea también sin anestesia previa (grupo F). De esta manera los animales se reutilizaron, y al mismo tiempo se les permitió recuperarse de las fases experimentales previas, lo que redujo el número de individuos necesarios. Al mismo tiempo, en cada fase experimental solo se utilizaron individuos que se mostraran en óptimo estado de salud, de esta manera se buscó garantizar el bienestar animal en función al principio de las tres “erres” (3RS) descrito por Russell. (Mirad de Osorio, 2006)

Podemos resumir los grupos experimentales como sigue:

- Grupo A: fluoresceína 1% vía intraesplénica, bajo anestesia
- Grupo B: fluoresceína 0.5% vía intraesplénica, bajo anestesia
- Grupo C: fluoresceína 1% vía subcutánea, bajo anestesia
- Grupo D: fluoresceína 0.5% vía subcutánea, bajo anestesia
- Grupo E: fluoresceína 1% vía subcutánea, sin anestesia
- Grupo F: fluoresceína 0.5% vía subcutánea, sin anestesia

Finalmente debe mencionarse que en todos los casos que se requirió anestesia, el protocolo utilizado fue el mismo, el cual se detalla más adelante.

5.6 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS

5.6.1 PROCEDIMIENTO ANESTÉSICO:

Las ratas fueron colocadas en jaulas individuales, siendo previamente pesadas e identificadas externamente en el lomo con un colorante no tóxico (plumón), para facilitar su identificación.

El protocolo anestésico fue diseñado basándose en la guía de anestesia y analgesia en ratas (Mudarra, 2009) y las recomendaciones de Thomas y Lerche (2017).

Las ratas fueron introducidas individualmente a una cámara de inducción anestésica con la finalidad de facilitar su manejo y reducir el estrés. En dicha cámara se introdujeron algodones embebidos del agente inhalatorio (sevoflurano), hasta lograr un grado de aturdimiento suficiente que simplificara la aplicación de fármacos y disminuir potenciales inconvenientes durante la inducción anestésica.

Todos los animales recibieron una combinación anestésica por vía intraperitoneal (IP) que contenía:

- Ketamina 70mg/kg
- Midazolam 4mg/kg
- Xilacina 4mg/kg
- Butorfanol 1mg/kg

Adicionalmente, considerando la eventual evaporación de líquidos corporales como consecuencia de la exposición de la cavidad abdominal durante el abordaje intraesplénico, se calculó un volumen de fluido de mantenimiento (ClNa 0.9%) de 5ml/kg/hora, el cual fue administrado por vía intraperitoneal, previamente temperado, antes de proceder al cierre quirúrgico de la cavidad abdominal.

Para el mantenimiento anestésico no se usó ningún fármaco, solamente oxígeno medicinal a razón de 0.3 L/min. Como el acceso a la vía aérea en esta especie animal es difícil, no se realizó intubación endotraqueal, sino que el oxígeno fue administrado mediante una mascarilla pequeña.

En todos los animales que fueron sometidos a anestesia, el monitoreo fue realizado con un equipo de pulsoximetría, además de un termómetro infrarrojo y un estetoscopio convencional.

Adicionalmente, con la finalidad de prevenir la hipotermia, se utilizaron bolsas pequeñas rellenas con semillas, que fueron previamente calentadas en el horno microondas, las cuales se colocaron alrededor del paciente durante los procedimientos quirúrgicos (de ser el caso) y la recuperación anestésica.

En los animales que fueron sometidos al abordaje quirúrgico, terminado el procedimiento quirúrgico se les aplicó una dosis de Yohimbina a razón de 0.2mg/kg con la finalidad de antagonizar parcialmente los efectos deletéreos de la xilacina. En los

animales que recibieron anestesia pero no fueron sometidos a abordaje quirúrgico, se les administró la misma dosis de Yohimbina 20 min tras la administración de la fluoresceína.

5.6.2 ADMINISTRACIÓN INTRAESPLÉNICA DE FLUORESCEÍNA: (Grupos A y B)

El protocolo fue diseñado por Bezold, en función a su experiencia previa en técnicas similares en cuyes (Bezold, 2014), y la literatura existente sobre uso de la vía intraesplénica en forma experimental.

- Una vez el paciente anestesiado, se realizó la tricotomía de la región ventral y asepsia del campo operatorio. Los animales fueron intervenidos en posición decúbito dorsal.

- Se logró el abordaje a la cavidad abdominal realizando una incisión a través de la línea media ventral abarcando piel, subcutáneo y pared abdominal, iniciando medio centímetro por debajo de la apófisis xifoides esternal extendiéndose hacia caudal lo necesario hasta obtener una adecuada visualización del bazo, el sistema venoso portal y el hígado.

- Se acomodó anatómicamente el bazo para facilitar su manipulación y favorecer la visualización, tras lo cual se procedió a inyectar la solución de contraste en un punto medio del parénquima, introduciendo una aguja calibre 26 no más de 0.5 cm de profundidad en un ángulo de 45 grados, en función al diámetro del bazo, en dosis de 0.2 ml/animal (equivalente a 2 mg/kg para la concentración al 1% y de 1 mg/kg para la concentración de 0.5%), dosis calculada proporcionalmente en base a las recomendaciones de Gómez de Ochoa (2011) para la inyección transesplénica de suero salino agitado en perros. La lámpara de Wood fue encendida previamente a la inoculación y se redujo la iluminación del quirófano a lo mínimo indispensable para realizar la manipulación del paciente y de los elementos de la investigación.

- Bajo la iluminación de la lámpara de Wood, se procedió a observar la distribución de la solución colorante en el sistema venoso portal y el parénquima hepático.

- Culminado el experimento, se procedió a reacomodar el bazo en su posición original, para luego proceder al cierre de la cavidad abdominal con sutura absorbible 4-

0 y finalmente al cierre de la herida en piel utilizando sutura no absorbible 4-0.

- Los animales intervenidos fueron alojados en jaulas individuales las primeras 48 horas tras el experimento. En las primeras horas se realizó el monitoreo de las constantes vitales hasta la recuperación de la anestesia.

- El manejo del dolor se realizó mediante la administración de Meloxicam 0.2 mg/kg subcutáneo cada 24 horas por 2 días y antibioterapia como prevención con Enrofloxacin 10 mg/kg subcutáneo cada 24 horas por 3 días (Carpenter, 2001).

- Teniendo como inicio la hora de inoculación del contraste, cada 30 minutos se evaluó la excreción urinaria del mismo, para lo cual los animales fueron colocados en cajas individuales con abundante papel toalla blanco a manera de cama, el cual se iluminó cada 30 minutos con la lámpara de Wood para detectar la presencia de fluoresceína en la orina. Este procedimiento se continuó hasta que no se pudieron observar vestigios detectables de fluoresceína bajo la luz de la lámpara de Wood, registrándose el tiempo para cada animal.

5.6.3 ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE FLUORESCÉINA BAJO ANESTESIA: (GRUPOS C Y D)

- Una vez el paciente anestesiado, se realizó la asepsia cutánea de la región interescapular con algodón y alcohol y se procedió a administrar la dosis de la solución de fluoresceína en dosis 2ml/kg (la misma dosis que la utilizada para la inyección intraesplénica) con la ayuda de una jeringa de tuberculina.

- Los animales anestesiados fueron alojados en jaulas individuales las primeras 48 horas tras el experimento. En las primeras horas se realizó el monitoreo de las constantes vitales hasta la recuperación de la anestesia.

- Se realizó la evaluación del tiempo de excreción en orina cada 30 minutos, bajo la iluminación de la lámpara de Wood, tal como se describió en el caso de los grupos experimentales A y B.

5.6.4 ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE FLUORESCENCIA SIN ANESTESIA: (Grupos E y F)

- Se tomó delicadamente a la rata de la base de la cola, tras lo cual se le ofreció una superficie rugosa de tela como agarre (Fowler, 1995), mientras un ayudante procedió a realizar la asepsia de la piel del área interescapular y procedió a la inyección subcutánea de la solución experimental elegida, en dosis 2 ml/kg, como en los grupos experimentales A, B, C y D
- Tras la inoculación, los animales fueron alojados en jaulas individuales las primeras 48 horas tras el experimento.
- Se realizó la evaluación del tiempo de excreción en orina cada 30 minutos, bajo la iluminación de la lámpara de Wood, tal como se describió en el caso de los grupos experimentales A y B.



Figura 1

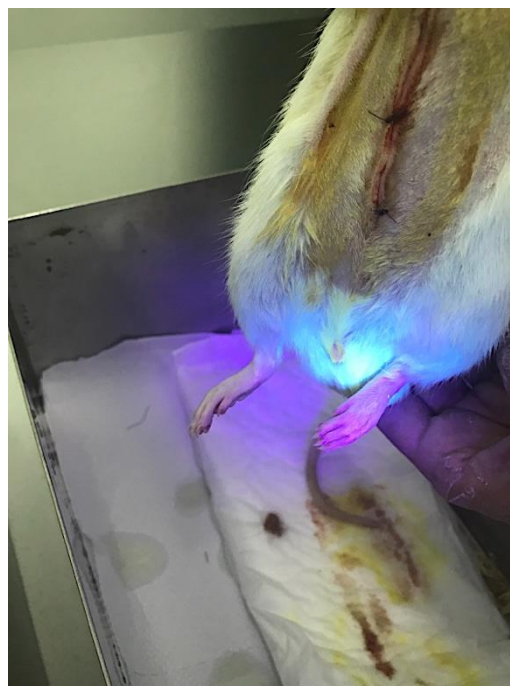


Figura 2



Figura 3

Las figuras 1, 2 y 3, muestran la fluorescencia de la fluoresceína sódica eliminada a través de la orina y siendo confirmada bajo la iluminación de la luz UV. (fuente: archivo personal)

5.6.5 RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

La recolección de datos se realizó a través de la observación del participante con la ayuda de equipos como la lámpara de Wood. La observación del participante está registrada a través de dos fichas, una ficha de identificación donde se registrará el grupo experimental y el peso, y otra ficha de registro de datos donde se anotó la hora de inoculación, vía administrada, si se encuentra bajo los efectos de la anestesia o no y las horas de cada orina hasta que la excreción de la fluoresceína sea completa (Anexos 1 y 2). La validez y confiabilidad de estas fichas serán corroboradas a través de fotos tomadas en cada procedimiento y resultado.

La información adquirida en la balanza fue contrastada dos veces, quiere decir que se pesó a la rata dos veces para la verificación del peso. Con respecto al uso del reloj, se

contrastó con el reloj digital del teléfono celular de la investigadora para corroborar el dato. Por último, la observación bajo la iluminación por la lámpara de Wood de la orina fue contrastada con otra persona observadora para verificar la reacción de la fluoresceína.

Los resultados obtenidos de las observaciones realizadas serán ingresados a una base de datos de MS Excel® y se analizarán mediante el programa informático IBM® SPSS Statistics, para las siguientes pruebas estadísticas:

a) Kolmogorov Smirnov: para ver si los resultados de las observaciones realizadas siguen una distribución normal.

b) Kruskal Wallis: (Ya que la prueba de Kolmogorov Smirnov arrojó una distribución normal), seguido de la prueba de Duncan, con la finalidad de detectar posibles diferencias entre los valores obtenidos entre los grupos experimentales.

5.7 ASPECTO ÉTICO:

Los animales utilizados para el presente estudio fueron mantenidos bajo condiciones de alojamiento, alimentación y manejo adecuados, respetando los planteamientos del “National Center for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs)”, así como las recomendaciones de la literatura consultada (Fowler, 1995; Crow *et al.*, 2009). Todos los medicamentos empleados, así como los procedimientos realizados, están aprobados para el uso en medicina veterinaria. En todo momento se buscó minimizar el estrés y el dolor, utilizando para ello protocolos de manejo anestésico y analgésico en los casos que lo requirieron.

Para el tamaño de muestra, se planteó el uso de los principios de las 3Rs de Russell, Se prolongó el tiempo de la experimentación, para que cada grupo experimental tenga una pausa, y después de un par de semanas, los animales se puedan volver a ser utilizados, generando que se

utilice el mismo grupo experimental 2 veces. Se utilizaron animales sin signos de enfermedad para que pudieran afrontar bien la experimentación, y estuvieron bajo rigurosa atención médica, contando con medicamentos y equipos para afrontar eventuales emergencias. Además, se instauró un protocolo de trabajo para minimizar el estrés en el manejo y en su lugar de descanso.

Adicionalmente se contó con la autorización del responsable del bioterio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Ricardo Palma para el uso de los animales. Por otro lado, para la realización de la fase experimental de esta investigación se contó con el apoyo de tres Médicos Veterinarios, así como de una egresada de esta misma casa de estudios.

VI. RESULTADOS

6.1 PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

En este estudio se analizaron los datos en base al tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica, siendo ésta la variable cuantitativa continua, en función a variables cualitativas politómicas como la vía de administración, la concentración de la fluoresceína, la acción anestésica y el peso. Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 1, 2 y 3.

TABLA 1: RESULTADOS PARA TIEMPO DE EXCRECIÓN URINARIA POR GRUPOS EXPERIMENTALES DE RATAS (*Rattus norvegicus albinus*) ANESTESIADAS INOCULADAS CON FLUORESCEÍNA SÓDICA POR VÍA INTRAESPLÉNICA

Grupo Experimental	Tratamiento	Animal	Peso (grs)	Inoculación	Hora		Tiempo de excreción	
					1 ^{era} orina	Última orina	Desde la primera orina	Total
A	Fluoresceína sódica 1%	1	429	11:21 am	15:15 pm	08:59 am	3 horas 54 min	21 horas 38 min
		2	397	11:55 am	12:49 pm	09:50 am	54 min	21 horas 55 min
		3	310	11:28 am	15:09 pm	11:00 am	3 horas 41 min	23 horas 32 min
		4	405	13:04 pm	20:45 pm	1:00 am	7 horas 41 min	11 horas 56 min
		5 ^a	357	10:28 am	-	-	-	-
B	Fluoresceína sódica 0.5%	6	438	10:41 am	20:30 pm	02:00 am	9 horas 49 min	15 horas 19 min
		7 ^a	369	12:16 pm	12:16 pm	-	-	-
		8	413	12:28 pm	16:20 pm	10:15 am	3 horas 52 min	21 horas 47 min
		9	510	11:58 am	18:25 pm	11:45 am	6 horas 27 min	23 horas 47 min
		10	410	12:53 pm	20:23 pm	12:00 pm	7 horas 30 min	23 horas 7 min

a. Animales fallecidos dentro de la hora inmediata a la finalización del procedimiento quirúrgico

TABLA 2: RESULTADOS PARA TIEMPO DE EXCRECIÓN URINARIA POR GRUPOS EXPERIMENTALES DE RATAS (*Rattus norvegicus albinus*) ANESTESIADAS INOCULADAS CON FLUORESCÉINA SÓDICA POR VÍA SUBCUTÁNEA

Grupo Experimental	Tratamiento	Animal	Peso (grs)	Inoculación	Hora		Tiempo de excreción	
					1 ^{era} orina	Última orina	Desde la primera orina	Total
C	Fluoresceína sódica 1%	11	504	12:10 pm	12:47 pm	11:00 am	37 min	22 horas 50 min
		12	434	12:12 pm	14:30 pm	06:00 am	2 horas 18 min	17 horas 48 min
		13	347	12:07 pm	21:15 pm	09:30 am	9 horas 8 min	21 horas 23 min
		14	430	11:48 am	13:36 pm	11:15 am	1 hora 48 min	23 horas 27 min
		15	416	11:47 am	12:57 pm	11:45 am	1 horas 10 min	23 horas 58 min
D	Fluoresceína sódica 0.5%	16	410	11:24 am	13:16 pm	09:00 am	1 hora 52 min	21 horas 36 min
		17	331	11:17 am	12:14 pm	11:00 am	57 min	23 horas 43 min
		18	401	12:14 pm	19:20 pm	08:00 am	7 horas 6 min	19 horas 46 min
		19	413	12:10 pm	12:48 pm	09:30 am	38 min	21 horas 20 min
		20	461	11:49 am	12:53 pm	09:00 am	1 hora 4 min	21 horas 11 min

TABLA 3: RESULTADOS PARA TIEMPO DE EXCRECIÓN URINARIA POR GRUPOS EXPERIMENTALES DE RATAS (*Rattus norvegicus albinus*) NO ANESTESIADAS INOCULADAS CON FLUORESCÉINA SÓDICA POR VÍA SUBCUTÁNEA

Grupo Experimental	Tratamiento	Animal	Peso (grs)	Inoculación	Hora		Tiempo de excreción	
					1 ^{era} orina	Última orina	Desde la primera orina	Total
E	Fluoresceína sódica 1%	21	414	11:30 am	11:47 am	20:00 pm	17 min	8 horas 30 min
		22	406	11:31 am	13:07 pm	18:20 pm	1 hora 36 min	6 horas 49 min
		23	500	10:40 am	11:05 am	20:00 pm	25 min	9 horas 20 min
		24	381	10:43 am	11:18 am	03:21 am	35 min	16 horas 38 min
		25	448	10:45 am	10:56 am	16:15 pm	11 min	6 horas 11 min
		26	335	11:33 am	12:58 pm	16:56 pm	1 hora 25 min	5 horas 23 min
F	Fluoresceína sódica 0.5%	27	373	11:34 am	20:23 pm	11:00 am	8 horas 49 min	23 horas 49 min
		28	325	10:47 am	12:43 pm	03:23 am	1 hora 56 min	16 horas 36 min
		29	450	10:49 am	11:00 am	16:14 pm	11 min	5 horas 25 min
		30	494	10:50 am	11:16 am	17:26 pm	26 min	6 horas 36 min

6.2 ANÁLISIS DE FRECUENCIAS

En la tabla 4, se muestra que el grupo de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 0.5%, en promedio iniciaron la excreción de la fluoresceína sódica en orina a las 2,33 horas post inoculación y, en promedio, terminaron de excretar en su totalidad la fluoresceína sódica en orina a las 21,72 horas post inoculación.

TABLA 4: Frecuencias estadísticas de ratas sometidas a anestesia, inoculadas con fluoresceína al 0.5% a nivel subcutáneo

GRUPO: INOCULACIÓN DE FLUORESCÉINA SUBCUTÁNEO 0.5% SOMETIDAS A ANESTESIA				
		Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica	
N	Válido	5	5	
	Perdidos	0	0	
Media		2,3240	21,7200	
Mediana		2,3240	21,60000	
Moda		,63 ^a	19,77 ^a	
Desviación Estándar		2,70861	1,45607	
Mínimo		,63	19,77	
Máximo		7,10	23,72	
Percentiles	25	,7900	20,4750	
	50	1,0700	21,6000	
	75	4,4850	23,0250	

a. Existen múltiples modos. Se muestra el valor más pequeño

En la tabla 5, se muestra que el grupo de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 1%, en promedio iniciaron la excreción de la fluoresceína sódica en orina a las 3 horas post inoculación y, en promedio, terminaron de excretar en su totalidad la fluoresceína sódica en orina a las 21,88 horas post inoculación.

TABLA 5: Frecuencias estadísticas de ratas sometidas a anestesia, inoculadas con fluoresceína al 1% a nivel subcutáneo

GRUPO: INOCULACIÓN DE FLUORESCÉINA SUBCUTÁNEO AL 1% SOMETIDAS A ANESTESIA				
		Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica	
N	Válido	5	5	
	Perdidos	0	0	
Media		3,0040	21,8860	
Mediana		1,8000	22,8300	
Moda		,62 ^a	17,80 ^a	
Desviación Estándar		3,48282	2,48152	
Mínimo		,62	17,80	
Máximo		9,13	23,97	
Percentiles	25	,8950	19,5900	
	50	1,8000	22,8300	
	75	5,7150	23,7100	

a. Existen múltiples modos. Se muestra el valor más pequeño

En la tabla 6, se muestra que el grupo de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía intraesplénica con fluoresceína sódica a la concentración del 0.5%, en promedio iniciaron la excreción de la fluoresceína sódica en orina a las 6,9 horas post inoculación y, en promedio, terminaron de excretar en su totalidad la fluoresceína sódica en orina a las 21 horas post inoculación.

TABLA 6: Frecuencias estadísticas de ratas sometidas a anestesia, inoculadas con fluoresceína al 0.5% a nivel intraesplénico

GRUPO: INOCULACIÓN DE FLUORESCÉINA INTRAESPLENICA AL 0.5% SOMETIDAS A ANESTESIA			
		Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica
N	Válido	4	4
	Perdidos	0	0
Media		6,9100	21,0000
Mediana		6,9750	22,4500
Moda		3,87 ^a	15,32 ^a
Desviación Estándar		2,46775	3,87701
Mínimo		3,87	15,32
Máximo		9,82	23,78
Percentiles	25	4,5150	16,9350
	50	6,9750	22,4500
	75	9,2400	23,6150

a. Existen múltiples modos. Se muestra el valor más pequeño

En la tabla 7, se muestra que el grupo de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía intraesplénica con fluoresceína sódica a la concentración del 1%, en promedio iniciaron la excreción de la fluoresceína sódica en orina a las 4,04 horas post inoculación y, en promedio, terminaron de excretar en su totalidad la fluoresceína sódica en orina a las 19,75 horas post inoculación.

TABLA 7: Frecuencias estadísticas de ratas sometidas a anestesia, inoculadas con fluoresceína al 1% a nivel intraesplénico

GRUPO: INOCULACIÓN DE FLUORESCÉINA INTRAESPLENICA AL 1% SOMETIDAS A ANESTESIA			
		Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica
N	Válido	4	4
	Perdidos	0	0
Media		4,0400	19,7525
Mediana		3,7900	21,7750
Moda		,90 ^a	11,93 ^a
Desviación Estándar		2,78439	5,28154
Mínimo		,90	11,93
Máximo		7,68	23,53
Percentiles	25	1,5950	14,3550
	50	3,7900	21,7750
	75	6,7350	23,1275

a. Existen múltiples modos. Se muestra el valor más pequeño

En la tabla 8, se muestra que el grupo de ratas que no tuvieron efecto anestésico, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 0.5%, en promedio iniciaron la excreción de la fluoresceína sódica en orina a las 2,56 horas post inoculación y, en promedio, terminaron de excretar en su totalidad la fluoresceína sódica en orina a las 11,56 horas post inoculación.

TABLA 8: Frecuencias estadísticas de ratas no sometidas a anestesia, inoculadas con fluoresceína al 0.5% a nivel subcutáneo

GRUPO: INOCULACIÓN DE FLUORESCÉINA SUBCUTÁNEO 0.5% NO SOMETIDAS A ANESTESIA			
		Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica
N	Válido	5	5
	Perdidos	0	0
Media		2,5560	11,5640
Mediana		1,4200	6,6000
Moda		,18 ^a	5,38 ^a
Desviación Estándar		3,57370	8,30967
Mínimo		,18	5,38
Máximo		8,82	23,82
Percentiles	25	,3050	5,4000
	50	1,4200	6,6000
	75	5,3750	20,2100

a. Existen múltiples modos. Se muestra el valor más pequeño

En la tabla 9, se muestra que el grupo de ratas que no tuvieron efecto anestésico, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 1%, en promedio iniciaron la excreción de la fluoresceína sódica en orina a las 0.6 horas post inoculación y, en promedio, terminaron de excretar en su totalidad la fluoresceína sódica en orina a las 9.49 horas post inoculación.

TABLA 9: Frecuencias estadísticas de ratas no sometidas a anestesia, inoculadas con fluoresceína al 1% a nivel subcutáneo

GRUPO: INOCULACIÓN DE FLUORESCÉINA SUBCUTÁNEO 1% NO SOMETIDAS A ANESTESIA				
		Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica	
N	Válido	5	5	
	Perdidos	0	0	
Media		,6120	9,4920	
Mediana		,4200	8,5000	
Moda		,18 ^a	6,18 ^a	
Desviación Estándar		,57247	4,18540	
Mínimo		,18	6,18	
Máximo		1,60	16,63	
Percentiles	25	,2300	6,5000	
	50	,4200	8,5000	
	75	1,0900	12,9800	

a. Existen múltiples modos. Se muestra el valor más pequeño

6.3 ANALISIS DE PRUEBA DE NORMALIDAD

Para poder comparar los resultados obtenidos, se utilizó la prueba estadística no paramétrica llamada Kolmogorov-Smirnov, la cual nos ayudó a determinar si los resultados seguían una distribución normal y comprobar si hay diferencia estadística.

Los datos arrojados en la tabla de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, presentaron un valor de significancia de las dos variables menor a 0.01 ($p < 0.01$), por lo que nuestras variables investigadas no presentaron una distribución normal, por lo que si hay una diferencia estadística en los datos obtenidos con los tiempos de excreción urinaria. (Tabla 10)

TABLA 10: *Prueba de Kolmogorov-Smirnov*

		Inicio de excreción (horas)	Total de excreción (horas)
N		28	28
Parámetros normales	Media	3,0814	17,3686
	Desviación estándar	3,15564	6,82865
Máximas diferencias extremas	Absoluta	,250	,247
	Positivo	,250	,167
	Negativo	-,179	-,247
Estadístico de prueba		,250	,247
Sig. asintótica (bilateral)		,000c	,000c

6.4 CONTRASTACIÓN DE HIPOTESIS

Como los datos no tenían una distribución normal, usamos una prueba llamada Kruskal-Wallis. Esta prueba nos ayudó a comparar diferentes grupos y ver si había alguna diferencia importante entre ellos.

En la tabla 11 se presentan los resultados de la prueba estadística, la cual revela diferencias estadísticamente significativas entre los datos de inicio y excreción total de la

fluoresceína sódica en la orina, con un nivel de significancia establecido en $p < 0.05$. Por consiguiente, rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alternativa, indicando que existe suficiente evidencia para afirmar que hay diferencias estadísticas entre los tiempos de excreción urinaria de la fluoresceína sódica en los grupos experimentales.

Además, se proporcionan los estadísticos de contraste, que nos ayudan a entender cuánto difieren los grupos entre sí. Observamos que el valor del chi cuadrado para el inicio de la excreción en orina de la fluoresceína sódica fue de 11.940. Esto nos indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en cuanto a cómo comenzó la excreción de la fluoresceína sódica, ya que el valor de significancia asociado a este resultado fue de 0.036 ($p < 0.05$), lo que significa que la probabilidad de obtener un resultado tan extremo como este, si la verdadera diferencia entre los grupos fuera cero, es del 3.6%.

De manera similar, observamos el valor del chi cuadrado para la excreción urinaria total de la fluoresceína sódica el cual fue de 11.472. Este valor sugiere que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en cuanto a la excreción total de la fluoresceína sódica a través de la orina. El valor de significancia asociado a este resultado fue de 0.043 ($p < 0.05$), lo que indica que la probabilidad de obtener un resultado tan extremo como este, si no hay diferencia real entre los grupos, es del 4.3%.

En resumen, estos estadísticos de contraste, representados por los valores del chi cuadrado y sus respectivos grados de libertad, nos proporcionan evidencia estadística de que existen diferencias significativas entre los grupos experimentales en términos de cómo comenzó y terminó la excreción de la fluoresceína sódica a través de la orina.

TABLA 11: Estadísticos de prueba^{a,b}

	Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica
Chi-Cuadrado	11,940	11,472
gl	5	5
Sig. Asintótica	,036	,043

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tratamiento

Con estos resultados podemos decir que se rechaza la hipótesis nula y se concluye que con un nivel de significación del 95%, los resultados obtenidos de la excreción urinaria de la fluoresceína al inicio y en totalidad difiere en los 4 grupos.

Con respecto a los datos de tiempo de excreción urinaria total contrastados con el peso, al realizar la prueba de Kruskal Wallis de muestras independientes (Tabla 12), los resultados mostraron que no tenían significancia estadística ($p > 0.05$), por lo que aceptamos la hipótesis nula, es decir, no hay diferencia estadística.

TABLA 12: Resumen de prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes

N Total	28
Estadístico de prueba	2.065 ^a
GI	2
Sig. Asintótica (Prueba Bilateral)	,036

a. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

También se evidenció, como se observa en la tabla 12, que no hay significancia estadística o diferencias entre las medianas de los pesos agrupados (Liviano, Mediano y Grande).

En la tabla 13, de rangos vemos que se analizaron 28 ratas en un total de 6 grupos, entre 4 – 5 por grupo. Con respecto al inicio de excreción de fluoresceína en orina vemos que el grupo de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía intraesplénica con fluoresceína sódica a la concentración del 1%, tomó más tiempo que el grupo de ratas que no tuvieron efecto anestésico, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 1%.

TABLA 13: *Prueba de Krushal – Wallis*

Rangos			
	Tratamiento	N	Rango Promedio en horas
Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	A	4	18,50
	B	4	23,50
	C	5	15,80
	D	5	13,60
	E	5	5,70
	F	5	12,50
TOTAL		28	

En la tabla 14, para la excreción en su totalidad de la fluoresceína sódica en orina, vemos que el grupo de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 1%, demoró más que el grupo de ratas que no tuvieron efecto anestésico, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 1%.

TABLA 14: Prueba de Krushal – Wallis

Rangos			
	Tratamiento	N	Rango Promedio en horas
Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica	A	4	17,00
	B	4	18,75
	C	5	19,80
	D	5	17,60
	E	5	6,40
	F	5	8,80
TOTAL		28	

6.5 ANÁLISIS DE DIFERENCIAS

Para el análisis de las diferencias se utilizó ANOVA unidireccional para la comparación de medias y poder para hallar dónde están las diferencias.

TABLA 15: Anova Unidireccional

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig
Inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica	Entre grupos	97,077	5	19,415	2,486	,063
	Dentro de grupos	171,790	22	7,809		
	Total	268,867	27			
Excreción Total urinaria de la fluoresceína sódica	Entre grupos	750,859	5	150,172	6,501	,001
	Dentro de grupos	508,163	22	23,098		
	Total	1259,022	27			

Para analizar las diferencias entre los grupos, se empleó un método estadístico llamado ANOVA unidireccional. Esta técnica nos permite comparar las medias de diferentes grupos y determinar si existen diferencias significativas entre ellos. El objetivo es identificar en qué grupos se encuentran esas diferencias.

En la Tabla 15 se presentan los resultados del análisis. Observamos que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en el tiempo de inicio de la excreción urinaria de la fluoresceína sódica. Esto significa que, según nuestros datos, los distintos grupos no muestran variaciones significativas en cuanto al momento en que comienza la excreción de la fluoresceína sódica a través de la orina.

Sin embargo, encontramos una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en el tiempo total de excreción de la fluoresceína sódica urinaria. Esto indica que los grupos sí difieren en términos del tiempo total que tardan en excretar la fluoresceína sódica a través de la orina.

Dado que hemos identificado una diferencia estadísticamente significativa en el tiempo total de excreción de la fluoresceína sódica urinaria entre los grupos, llevaremos a cabo comparaciones adicionales para determinar qué grupos específicos difieren entre sí. Para hacer esto, utilizaremos la prueba de Duncan, que nos permite comparar las medias de cada par de grupos y determinar cuáles muestran diferencias significativas.

En la tabla 16, se muestran los resultados comparativos entre los grupos experimentales con respecto a la primera excreción de la fluoresceína sódica en orina. Estos resultados concluyen que no hay diferencia significativa entre los tiempos de inicio de excreción urinaria de la fluoresceína sódica, ya que 5 datos de 6, comparten la misma columna.

TABLA 16: Prueba de DUNCAN^{a,b}**INICIO DE EXCRECIÓN URINARIA DE LA FLUORESCÉINA SÓDICA**

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para α 0.05	
		1	2
A	4	4,0400	4,0400
B	4		6,9100
C	5	3,0040	3,0040
D	5	2,3240	
E	5	,6120	
F	5	2,5560	
Sig		,107	,056

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,615.
- Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

En la Tabla 17, se presentan los resultados de un análisis comparativo entre los grupos experimentales, en relación con la cantidad total de fluoresceína sódica que excretan a través de la orina. Estos resultados muestran que hay diferencias significativas entre los grupos de ratas no sometidas a anestesia, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 0.5% y 1%, frente a los grupos de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía subcutánea con fluoresceína sódica a la concentración del 0.5% y 1%, con las en grupo de ratas sometidas a anestesia, inoculadas por vía intraesplénica con fluoresceína sódica a la concentración del 0.5% y 1%.

TABLA 17: Prueba de DUNCAN^{a,b}

EXCRECIÓN TOTAL URINARIA DE LA FLUORESCÉINA SÓDICA			
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para α 0.05	
		1	2
A	4		19,7525
B	4		21,0000
C	5		21,8860
D	5		21,7200
E	5	9,4920	
F	5	11,5640	
Sig		,519	,545

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,615.
- b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

VII. DISCUSION

Según los resultados presentados, la fluoresceína sódica se inoculó exitosamente, sin complicaciones, mediante ambas vías, y se eliminó en su mayoría a través de la orina. En cuanto al tiempo de excreción, los promedios obtenidos no mostraron diferencias significativas entre la administración subcutánea e intraesplénica de fluoresceína sódica, ya que los resultados promedio estuvieron dentro de rangos similares, independientemente de la vía de administración. En ambos casos, los tiempos de excreción urinaria no se vieron afectados por la concentración de la fluoresceína o el peso de los sujetos estudiados. En ambos casos los promedios han salido similares estadísticamente, ya que ocurrió en un rango a las que se administró de manera subcutánea, entre 21,72 – 21,88 horas, versus las que se inoculó de manera intraesplénica, entre 19,75 – 21 horas. La concentración de la fluoresceína, que fue indistinta al peso, tampoco formó un factor determinante en el tiempo de excreción urinaria. En ambos casos los promedios resultaron similares de acuerdo a la vía administrada, arrojando un rango promedio en los que se inoculó de manera subcutánea sin efecto de la anestesia de 9,5 horas al 1% y un tiempo de 11,5 horas al 0,5%. De manera intraesplénica bajo anestesia, la excreción urinaria fue de 19,8 horas al 1% y 21 horas al 0.5%. De manera subcutánea bajo anestesia la excreción urinaria fue de 21,8 horas al 1% y un tiempo de 21,7 horas al 0.5%.

Se resalta que el estudio comparativo entre la administración de fluoresceína sódica por vía subcutánea e intraesplénica arrojó resultados distintos en cuanto al tiempo de excreción urinaria.

En la literatura sobre principios de farmacología, autores como Buxton (2012), Botana (2002) y Sumano (2006) han señalado que las vías parenterales, es decir, aquellas que no son por vía oral, como las inyecciones, tienen la ventaja de actuar más rápidamente que las vías enterales, es decir, aquellas que se administran por la boca y pasan por el sistema digestivo.

Esto se debe a que las vías parenterales evitan el proceso digestivo y llevan la sustancia directamente al torrente sanguíneo, lo que acelera su absorción y acción en el cuerpo. Además, se menciona que las vías intravasculares, que implican la administración directa en el torrente sanguíneo, tienen un efecto aún más rápido que las vías subcutáneas, donde la sustancia se administra debajo de la piel y tarda más en ser absorbida debido a la falta de acceso directo al flujo sanguíneo. Comparandola con el trabajo realizado, el factor que más influyó en los tiempos de excreción de una sustancia fue el efecto de la anestesia. Se observó que no hubo una diferencia significativa en los tiempos de excreción entre las vías subcutánea e intraesplénica cuando se administró la anestesia. Esto sugiere que la presencia de anestesia puede haber igualado los tiempos de excreción entre estas dos vías de administración, lo cual es contrario a lo esperado según la literatura de farmacología.

En el estudio de Bezold (2014) con cuyes con respecto a la diferencia en el tiempo de excreción urinaria, la fluoresceína sódica administrada a través de la vena yeyunal presentó un tiempo máximo de excreción urinaria de 16 horas, con un promedio de 13 horas y 20 minutos para el grupo tratado con una concentración del 0.5%. En el estudio actual, que empleó la vía intraesplénica en ratas, se observó un tiempo máximo de excreción urinaria de 23 horas y 47 minutos, con un promedio de alrededor de 21 horas para el grupo con la misma concentración del 0.5%. La discrepancia en los tiempos podría estar relacionada con las diferencias anatómicas entre ratas y cuyes, como la presencia de vesícula biliar en estos últimos. Se plantea que la presencia de la vesícula biliar en los cuyes puede influir en la velocidad de eliminación de la fluoresceína sódica, ya que la excreción de esta sustancia se produce a través de la vía renal y biliar. La ausencia de la vesícula biliar en ratas podría tener un impacto en la excreción del compuesto, lo que tal vez explique la diferencia en los tiempos de excreción observados. En ambos estudios, no se encontraron diferencias significativas en el tiempo total de excreción urinaria al variar la concentración de fluoresceína sódica entre el 0.5% y el 1%. Esto sugiere

que la concentración de la sustancia no influyó de manera significativa en el tiempo de eliminación. Además, se destaca que en la presente investigación no se observaron diferencias en la excreción urinaria en función de la vía de inoculación utilizada, lo que sugiere que la vía subcutánea e intraesplénica no afectó significativamente el proceso de excreción de la fluoresceína sódica.

En resumen, los hallazgos sugieren que las diferencias en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica entre ratas y cuyes podrían estar influenciadas por factores anatómicos, como la presencia de la vesícula biliar, y no tanto por la concentración del compuesto o la vía de inoculación.

En el estudio realizado por Guzmán et al. (2015) se comparó la excreción urinaria de fluoresceína sódica administrada por vía oral en vacas, con un tiempo de excreción de 34 horas y una iniciación de la excreción a los 30 minutos post administración en el grupo con la concentración más elevada de fluoresceína. En contraste, en el estudio actual se observó un tiempo máximo de excreción urinaria de 23 horas mediante la vía subcutánea, sin la influencia de la anestesia, con la primera orina mínima ocurriendo a las 5 horas y 23 minutos, utilizando dos concentraciones distintas de fluoresceína sódica.

Al comparar estos resultados, se destacan las siguientes diferencias y posibles explicaciones: En el caso de las vacas, se observó que a concentraciones más altas de fluoresceína sódica, se obtuvo un tiempo de excreción urinaria más prolongado. En contraste, en el estudio actual con ratas, no se identificó una relación directa entre la concentración de la sustancia y el tiempo de excreción, ya que se obtuvieron tiempos de excreción más cortos independientemente de la concentración utilizada. Se señala que las vacas iniciaron la excreción en un tiempo más breve después de la administración oral en comparación con las ratas en el estudio actual. Se sugiere que esta discrepancia podría estar relacionada con las

diferencias en el metabolismo y en el aclaramiento renal entre las especies, lo que podría afectar la velocidad de eliminación y el tiempo de excreción de la fluoresceína sódica. Se destaca que la vía oral utilizada en las vacas implica una absorción intestinal previa a la distribución en el organismo, lo que podría influir en el tiempo de inicio y la velocidad de excreción en comparación con las vías inyectables como la subcutánea empleada en el estudio actual, que permiten una acción más directa del compuesto.

En conclusión, las diferencias observadas en los resultados entre las vacas y las ratas en cuanto al tiempo de excreción de la fluoresceína sódica podrían deberse a distintos factores, como la velocidad de metabolismo, el aclaramiento renal y la vía de administración utilizada. Estos aspectos demuestran la importancia de considerar las particularidades de cada especie en los estudios farmacocinéticos y de excreción de compuestos como la fluoresceína sódica.

VIII. CONCLUSIONES

- La diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica inoculada vía intraesplénica y subcutánea no fue significativa, según el análisis estadístico de los resultados.
- No se encontraron diferencias significativas en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica inoculada vía intraesplénica y subcutánea con dos concentraciones distintas, según el análisis estadístico de los resultados.
- La diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea, varía según el tipo de anestesia administrada, lo que sugiere que la anestesia desempeña un papel significativo en la excreción urinaria de la fluoresceína sódica.
- No se observó una variación significativa en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína cuando fue inoculada vía intraesplénica y subcutánea considerando el peso de las ratas albinas.
- No se encontró ninguna diferencia significativa en el tiempo de excreción urinaria en relación con el peso en el estudio realizado.

IX. RECOMENDACIONES

- Sería de utilidad realizar más estudios de tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína sódica administrada en diferentes vías, y compararlas. Quizás realizarlo inicialmente en cuyes y luego en otras especies como perro y gato. Dichos datos servirían como referencia para experimentaciones futuras.
- Teniendo como referencia el estudio de Dip (2014), sería bueno tener más investigaciones involucrando la fluoresceína sódica en el área de cirugía veterinaria. Conociendo de manera práctica, que en cirugías como ovariectomía, el riesgo de poder ligar un ureter es bajo pero existe; a través de la inoculación de fluoresceína sódica, se puede ver por fluorescencia el uréter y así se reduciría el riesgo de ligarlo. O en cirugías como nefrectomía o relacionadas a ésta, tener una imagen clara del ureter sería de mucha utilidad., sabiendo que la fluoresceína sódica es un tinte muy seguro y que tiene un 0.6% de probabilidad que tenga reacciones adversas.
- Otro estudio interesante a futuro, sería la comparación de rapidez de excreción de un fármaco, y dicho fármaco tenga excreción biliar y renal, y sea comparados en dos especies, una de ella la rata, ya que no posee vesícula biliar, y la otra podría ser un cuy, que sí posee vesícula biliar, y ver si hay diferencias o no en el tiempo de depuración o excreción del fármaco y esté ligado a la presencia de vesícula biliar.
- Sería bueno realizar un estudio de aclaramiento renal para cada especie, para estandarizar los datos, sobretodo de los animales de laboratorio.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvinerie, M., Sutra, J. F., Galtier, P. Ivermectin in goat plasma and milk after subcutaneous injection. *Veterinary Research, BioMed Central*, 1993, 24 (5), pp.417-421. fahal-00902156f
2. Baraboglia, E. (2009). Uso de la fluoresceína en la práctica clínica veterinaria. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 10 (3), 1-10. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617318012>
3. Bezold, U. (2010). Aplicaciones de la fluoresceína en la práctica médica veterinaria – Revisión Bibliográfica. *Sirivs*. <https://docplayer.es/8094887-Aplicaciones-de-la-fluoresceina-en-la-practica-medica-veterinaria.html>
4. Bezold, U. (2014). Portografía fluoresceínica en cuyes (*Cavia porcellus*) *Cybertesis*. *UNMSM*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4239>
5. Blair, N. P., Evans, M. A., Lesar, M. A., y Zeimer, R.C. (1986). Fluorescein and fluorescein glucuronide pharmacokinetics after intravenous injection. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 27 (7), 1107-1114. <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2177564>
6. Botana López, L. M., Landoni, F. M., Martin-Jiménez, T. (2002). *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana de España.
7. Braithwaite, J.L. y Adams, D.J. (1957). The venous drainage of the rat spleen. *J Anat* 1957 Jul; 91(Pt 3): 352-357. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1244920/>

8. Buffington, T., y Woodworth, B.E. (1997). Excretion of Fluorescein in the Urine of Women With Interstitial Cystitis. *The journal of urology*, 158 (3), 786-789.
<https://www.auajournals.org/doi/10.1016/S0022-5347%2801%2964316-7>
9. Buxton, I. L. O., y Benet, L. Z. (2012). Farmacocinética: Dinámica de la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de fármacos. En L. L. Brunton. B. A. Chabner. B. C. Knollmann. (Ed.), *Goodman & Gilman Las Bases farmacológicas de la terapéutica* (pp.17-39). México: McGraw-Hill Interamericana.
10. CAMEO – Conservation and art materials encyclopedia online. (2016). *Fluorescein Sodium*. http://cameo.mfa.org/wiki/Fluorescein_sodium
11. Chahal, P.S., Neal, M.J., y Kohner, E.M. (1985). Metabolism of fluorescein after intravenous administration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 26 (5), 764-768. <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2177165>
12. Chen, S., Nakamura, H., y Tamura, Z. (1980). Determination of Fluorescein and Fluorescein Monoglucuronide excreted in Urine. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 28 (9), 2812-2816.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/28/9/28_9_2812/_article
13. Chen, S., Nakamura, H., y Tamura, Z. (1980). Studies on the Metabolites of Fluorescein in Rabbit and Human Urine. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 28 (5), 1403-1407.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/28/5/28_5_1403/_article

14. Cimino Brown, D. (2006). Intestino delgado. En: Slatter, d. Tratado de cirugía en pequeños animales. 1er volumen. 3 ed. Intermédica. Argentina.
15. Cole James, R. C., Morandi, F., Avenell, J., & Daniel, G. B. (2005). Trans-splenic portal scintigraphy in normal dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 46(2), 146-152. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2005.00029.x>
16. *DailyMed - AK-FLUOR- fluorescein sodium injection*. (n.d.). <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=a1823be3-a739-48bc-a3ea-ceb7cc5105ce>
17. Delori, F. C., Castany, M. A., & Webb, R. H. (1978). Fluorescence characteristics of sodium fluorescein in plasma and whole blood. *Experimental eye research*, 27 (4), 417-425.
18. Dip, F., Nahmod, M., Anzorena, F. S., Moreira, A., Sarotto, L., Ampudia, C., Kalaskar, S. N., Ferraina, P., Rosenthal, R. J., & Wexner, S. D. (2014). Novel technique for identification of ureters using sodium fluorescein. *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques*, 28(9), 2730–2733. <https://doi.org/10.1007/s00464-014-3519-5>
19. Echevarria Uruga, J., García-Alonso Montoya, I., Díaz Sanz, I., Herrero De La Parte, B., Miguélez Vidales, J., Zabalza Estévez, I., & Fernández-Ruanova, B. (2010). Caracterización ecográfica de un modelo experimental de metástasis hepáticas de carcinoma de colon. *Radiología*, 52(1), 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2009.09.010>

20. Fowler, M.E. (1995). *Restraint and handling of wild and domestic animals*. 2 ed. Iowa State University Press. United States of America.
21. Gilsanz, V; Gallego, M; Vergara., A (1957). Dinámica de la circulación portal. *Revista Clínica Español*, 66, 300-303.
22. Gómez de Ochoa, P. (2011). Ecografía e inyección transesplénica de suero salino agitado: diagnóstico de las comunicaciones. *Revista de la Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de Compañía* 44,:4-8.
23. Gontijo, F, Petroianu, A., Fernandes, S., Cardoso, V., y Vilhena de Parreira, E. (2014). Scintigraphic study of the splenic circulation in rats. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgioes*. 45(5): 345-50. Recuperado de:
https://www.researchgate.net/publication/269173167_Scintigraphic_study_of_the_splenic_circulation_in_rats
24. Gonzalez Arribas, M. (2018). Efecto de la hepatectomía parcial sobre el Desarrollo de metastasis hepaticas: revision bibliográfica y studio experimental en un modelo murino. Trabajo de fin de grado. Grado en Medicina. Universidad del País Vasco. España.
<http://www.oc.lm.ehu.es/Departamento/TFG/TFG%20Mikel%20Gonz%C3%A1lez%20Arribas.pdf>
25. Grotte, D., Mattox, V., y Brubaker, R. (1985). Fluorescent, physiological and pharmacokinetic properties of fluorescein glucuronide. *Experimental Eye Research* 40 (1), 23-33.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0014483585901058?via%3Dihub>

26. Gusmão, M. R., Alves, T. C., Lemes, A. P., Bettioli, G. M., Pedroso, A. de F., Junior Barioni, W., ...Grego, C. R. (2015). Sodium fluorescein as an internal tracer on the location of bovine urine patches in pastures. *Grass and forage science*, 71, 305-314.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/gfs.12182>
27. Jampol L.M., Cunha-Vaz J. (1984) Diagnostic Agents in Ophthalmology: Sodium Fluorescein and Other Dyes. En: Sears M.L. (Ed.), *Pharmacology of the Eye. Handbook of Experimental Pharmacology*. (69. 699 – 714). Berlin, Alemania: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-642-69222-2_21#citeas
28. Jeff, C.R.A. (1992). Fluorescein Sodium What is it?. *Journal of Ophthalmic Photography*, 14 (2).
https://cdn.ymaws.com/www.opsweb.org/resource/resmgr/OP_Angiography/14-2-09.pdf
29. Knudsen, L.L., Olsen, T., y Nielsen-Kudsk, F. (1992). Fluorescein and fluorescein glucuronide in plasma. *Acta ophthalmologica*, 70 (4), 447-453.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1755-3768.1992.tb02113.x>
30. Kuneš, M., Květina, J., Maláková, J., Bureš, J., Kopáčová, M., Rejchrt, S. (2010). Pharmacokinetics and organ distribution of fluorescein in experimental pigs: an input study for confocal laser endomicroscopy of the gastrointestinal tract. *Neuroendocrinology Letters*, 31 (Suppl.2), 101-105.
https://www.researchgate.net/publication/49711304_Pharmacokinetics_and_organ_d

istribution_of_fluorescein_in_experimental_pigs_An_input_study_for_confocal_laser_endomicroscopy_of_the_gastrointestinal_tract

31. Kwan, A., Barry, C., McAllister, I. L., y Constable, I. (2006). Fluorescein angiography and adverse drug reactions revisited: the Lions Eye experience. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 34 (1), 33-38.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1442-9071.2006.01136.x>
32. Larsen, M., Lennart, B., y Johansson, Å. (1989). Time-resolved fluorescence properties of fluorescein and fluorescein glucuronide. *Experimental Eye Research*, 48 (4), 477–485.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0014483589900316?via%3Dihub>
33. Lewis, R. (1993). *Hawley's Condensed Chemical Dictionary 10th ed.* New York, Estados Unidos: Van Nostrand Reinhold.
34. Marcusso, F. P., Claudiano, G. S., Yunis, J., Manrique, W., Gustavo, C., Salvador, R., Moraes, F. (2014). Sodium fluorescein for early detection of skin ulcers in *Aeromonas hydrophila* infected *Piaractus mesopotamicus*. *Bulletin- European Association of Fish Pathologists*, 34(3), 102 – 106. https://eafp.org/download/2014-volume34/issue_3/34-3-102-Marcusso.pdf
35. Martins, P. y Neuhaus, P.(2007). Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature, and bile ducts in the rat. *Liver Int.* 27, 384-392.
https://www.researchgate.net/publication/6452612_Martins_PN_Neuhaus_P_Surgical_anatomy_of_the_liver_hepatic_vasculature_and_bile_ducts_in_the_rat_Liver_Int_27_384-392

36. Mchdlov-Petrossyan, N.O. (2004). флуоресцеиновые красители в растворах - хорошо изученные системы? [Tintes fluorescinos en soluciones - ¿Buenos sistemas de estudio?]. *Boletín de la Universidad Nacional de Járkov*, 11 (34), 01-03.
<http://chembull.univer.kharkov.ua/archiv/2004/13.pdf>
37. Mentzel, R. E. (2004, September 9). *Aspersión urinaria en felinos*. Portal Veterinaria.
<https://www.portalveterinaria.com/articoli/articulos/16903/aspersion-urinaria-en-felinos.html>
38. Mirad de Osorio, A. (2006). Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compita a todos. *Revista Colombiana de Bioética*, 1 (1),163-183.[fecha de Consulta 16 de Mayo de 2022]. ISSN: 1900-6896.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189217283010>
39. National Center for Biotechnology Information. (2019). PubChem Database.
Fluorescein disodium salt, CID=9885981.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fluorescein-disodium-salt>
40. Romanchuk, K.G. (1982). Fluorescein. Physicochemical factors affecting its fluorescence. *Survey of Ophthalmology* 26 (5), 269-183.
[https://www.surveyophthalmol.com/article/0039-6257\(82\)90163-1/pdf](https://www.surveyophthalmol.com/article/0039-6257(82)90163-1/pdf)
41. Sakai, Y., Seto, C., y Araie, M. C. (1986). Study of fluorescein glucuronide. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 224 (2), 110-112.
<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02141480>

42. Salem, H., Loux, J.J., Smith, S., and Nichols, C.W. (1979). Evaluation of the toxicologic and teratogenic potentials of sodium fluorescein in the rat. *Toxicology*, 12 (2), 143-150.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0300483X79900404?via%3Dihub>
43. Sepúlveda, R., Selamé, E., Roessler, E., Tagle, R., & Valdivieso, A. (2019). Intoxicación por etilenglicol, fisiopatología y enfrentamiento clínico. *Revista médica de Chile*, 147(12), 1572–1578. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872019001201572>
44. Shiraya, K., y Nagataki, S. (1986). Movement of fluorescein monoglucuronide in the rabbit cornea. Diffusion in the stroma and endothelial permeability. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 27 (1), 24-28.
<https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2159796>
45. Stein, M.R., y Parker, C.W. (1971). Reactions Following Intravenous Fluorescein. *American Journal of Ophthalmology*, 72 (5), 861-868.
[https://www.ajo.com/article/0002-9394\(71\)91681-3/pdf](https://www.ajo.com/article/0002-9394(71)91681-3/pdf)
46. Sumano, H. S., Ocampo, L. (2006). *Farmacología Veterinaria*. D.F, México: McGraw-Hill Interamericana.
47. Suttie, A. (2018). *Boorman's Pathology of the Rat: Reference and Atlas*. VA USA: Elsevier Science Publishing Co Inc, United States.
48. Vdovíaková, K., Vdovíaková, K., Petrovová, E., Krešáková, L., Maloveská, M., Teleky, J., Jenčová, J., Živčák, J. y Jenča, A. Jr. (2016). Importance rat liver morphology

and vasculature in surgical research. *Med Sci Monit.* 2016 Dec 2;22:4716-4728.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27911356>

49. Webb, J.M., Brouwer, E.A., y Fonda, M. (1962). Metabolism and excretion patterns of fluorescein and certain halogenated fluorescein dyes in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 137 (2), 141-147.
<http://jpet.aspetjournals.org/content/137/2/141.long>
50. Windholz, M. (Ed.). (1983). *The Merck Index 10th ed.* Nueva Jerse, Estados Unidos: Merck Research Labs.
51. Winter, M. L., Ellis, M. D., & Snodgrass, W. R. (1990). Urine fluorescence using a wood's lamp to detect the antifreeze additive sodium fluorescein: A qualitative adjunctive test in suspected ethylene glycol ingestions. *Annals of Emergency Medicine*, 19(6), 663–667. [https://doi.org/10.1016/s0196-0644\(05\)82472-2](https://doi.org/10.1016/s0196-0644(05)82472-2)
52. Yankell, S.L., y Loux, J.J. (1977). Acute Toxicity Testing of Erythrosine and Sodium Fluorescein in Mice and Rats. *Journal of Periodontology*, 48 (4), 228-231.
<https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.1977.48.4.228>

XI. ANEXOS

11.1 ANEXO 1: FICHA DE IDENTIFICACIÓN Y REGISTRO DE DATOS DE LOS INDIVIDUOS

GRUPO EXPERIMENTAL: Inoculación de fluoresceína subcutáneo 0.5% con anestesia		
# Rata	Peso (gr)	Fecha
Rata # 1	410	13/11/2018
Rata # 2	331	13/11/2018
Rata # 3	401	19/12/2018
Rata # 4	413	19/12/2018
Rata # 5	461	03/01/2019

GRUPO EXPERIMENTAL: Inoculación de fluoresceína subcutáneo 1% con anestesia		
# Rata	Peso (gr)	Fecha
Rata # 1	504	19/12/2018
Rata # 2	434	19/12/2018
Rata # 3	347	19/12/2018
Rata # 4	430	03/01/2019
Rata # 5	416	03/01/2019

GRUPO EXPERIMENTAL: Inoculación de fluoresceína intraesplénica 0.5% con anestesia		
# Rata	Peso (gr)	Fecha
Rata # 1	438	21/11/2018
Rata # 2	369	21/11/2018
Rata # 3	413	21/11/2018
Rata # 4	510	12/12/2018
Rata # 5	410	12/12/2018

GRUPO EXPERIMENTAL: Inoculación de fluoresceína intraesplénica 1% con anestesia		
# Rata	Peso (gr)	Fecha
Rata # 1	429	14/11/2018
Rata # 2	397	14/11/2018
Rata # 3	310	14/11/2018
Rata # 4	405	14/11/2018
Rata # 5	357	12/12/2018

GRUPO CONTROL: Inoculación de fluoresceína subcutánea 0.5% sin anestesia		
# Rata	Peso (gr)	Fecha
Rata # 1	335	28/11/2018
Rata # 2	373	28/11/2018
Rata # 3	325	06/12/2018
Rata # 4	450	06/12/2018
Rata # 5	494	13/12/2018

GRUPO CONTROL: Inoculación de fluoresceína subcutánea 1% sin anestesia		
# Rata	Peso (gr)	Fecha
Rata # 1	414	28/11/2018
Rata # 2	406	28/11/2018
Rata # 3	500	06/12/2018
Rata # 4	381	06/12/2018
Rata # 5	448	06/12/2018

11.2 ANEXO 2: MATRIZ DE CONSISTENCIA PARA ASEGURAR LA COHERENCIA EN EL PLAN DE TESIS

La matriz de consistencia se muestra en las siguientes páginas.

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>Se desea probar en dos vías parenterales diferentes de forma extravascular la aplicación de la fluoresceína y evaluar el tiempo de eliminación en orina, evaluando los posibles factores que puedan influir en la eliminación utilizando como modelo experimental a la rata (<i>Rattus norvegicus albinus</i>), ya que se desconoce su tiempo de eliminación en esta especie.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ¿Habrà variación en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína con la vía de administración utilizada? • ¿Qué diferencia habrá en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína con la vía de administración utilizada? 	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea en función a la concentración • Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea en función a la anestesia • Determinar la diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína, inoculada vía intraesplénica y subcutánea en función al peso 	<ul style="list-style-type: none"> • Ho: No existe diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína inoculada subcutánea e intraesplénica • Ha: Existe diferencia en el tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína inoculada subcutánea e intraesplénica 	<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tiempo de excreción urinaria de la fluoresceína <p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vía de administración (Subcutánea e intraesplénica) <p>VARIABLES DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS (independientes)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concentración 0.5% • Concentración 1% • Con animal anestesiado • Animal no anestesiado • Peso 300gr • Peso 400 gr 	<p>MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN</p> <p>Aplicativo científico y un diseño experimental con enfoque cuantitativo prospectivo</p> <p>DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</p> <p>Experimental enfoque cuantitativo prospectivo</p> <p>ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN</p> <p>Población: 15 Ratas albinas (<i>Rattus norvegicus albinus</i>)</p> <p>Se empleará como criterio de inclusión para la selección las siguientes características: Sean machos, de 5 a 8 meses, con un peso mayor a 300 gr y menor a 600 gr y estén clínicamente sanos. Por lo tanto, a las que excluiré son a las hembras, machos menores de 4 meses y adultos, machos que pesan menos de 300 y más a 700 gr y a los que presentan signos clínicos de enfermedad. El rango de edad seleccionado se ha establecido de acuerdo a un principio fisiológico ya que, la rata ya tiene su tamaño definido y conductualmente aún están en una edad donde la agresividad no es característica. El rango del peso seleccionado se ha fijado de acuerdo a la edad, puesto que se atribuye a una buena condición corporal.</p> <p>INSTRUMENTOS Y FUENTES DE INFORMACIÓN</p> <ul style="list-style-type: none"> • Base de datos <p>Observación participante: Dos fichas, una ficha de identificación donde se registrará el grupo experimental y el peso, y otra ficha de registro de datos donde se anotará la hora de inoculación, vía administrada, si se encuentra bajo los</p>

			<p>efectos de la anestesia o no y las horas de cada orina hasta que la excreción de la fluoresceína sea completa.</p> <p>La validez y confiabilidad de estas fichas serán corroboradas a través de, fotos tomadas en cada procedimiento y resultado, con respecto a la identificación se corroborará a la colocación en el lomo a través de un plumón, una seña particular.</p> <p>La información adquirida en la balanza será contrastada dos veces, quiere decir que pesaremos a la rata dos veces para la verificación del peso.</p> <p>Con respecto al uso del reloj será contrastado con el reloj digital del celular para corroborar el dato. Por último, la lámpara de Wood al ser alumbrada en la orina, será contrastada con otra persona observadora para verificar la reacción de la fluoresceína.</p> <p>CRITERIOS DE RIGUROSIDAD DE LA INVESTIGACIÓN Enfoque científico Validez: Seguridad en los materiales utilizados Confiabilidad de los materiales</p>
--	--	--	--

Revisado por: Ursula L. Bezold Arnillas (Asesor de Tesis)



08 Junio 2023