



UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA DE RESIDENTADO MÉDICO Y ESPECIALIZACIÓN

Estudio anatomopatológico medular murino neonatal sometido a la administración de morfina intraespinal.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Para optar el Título de Especialista en Anestesiología

AUTOR

Fernández Rojas, Maritza Raisa Yraida

(0000-0002-8450-0007)

ASESOR

Ledesma Diaz, Iris Fiorella

(0000-0001-7196-0664)

Lima, Perú

2023

Metadatos Complementarios

Datos de autor

Fernández Rojas, Maritza Raisa Yraida

Tipo de documento de identidad del AUTOR: DNI

Número de documento de identidad del AUTOR: 46098061

Datos de asesor

Ledesma Diaz, Iris Fiorella

Tipo de documento de identidad del ASESOR: DNI

Número de documento de identidad del ASESOR: 41876816

Datos del Comité de la Especialidad

PRESIDENTE: Menacho Terry, Jorge Luis

DNI: 40138676

Orcid: 0000-0002-1349-2759

SECRETARIO: Condori Zevallos, Jessica Katherine

DNI: 45980546

Orcid: 0000-0001-5992-9867

VOCAL: Kuong Diaz, Victor Jaime

DNI: 04438236

Orcid: 0000-0003-0776-8111

Datos de la investigación

Campo del conocimiento OCDE: 3.02.09

Código del Programa: 912039

INDICE

Índice

CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática	3
1.2 Formulación del problema.....	3
1.3 Objetivos.....	3
1.4 Justificación.....	4
1.5 Limitaciones.....	4
1.6 Viabilidad.....	5

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación.....	5
2.2 Bases teóricas.....	6
2.3 Definiciones conceptuales.....	10
2.4 Hipótesis.....	11

CAPÍTULO III METODOLOGÍA^[17]_{SEP}

3.1 Diseño.....	11
3.2 Población y muestra	12
3.3 Operacionalización de variables.....	13
3.4 Técnicas de recolección de datos. Instrumentos.....	13
3.5 Técnicas para el procesamiento de la información.....	20
3.6 Aspectos éticos.....	20

CAPÍTULO IV RECURSOS Y CRONOGRAMA

4.1 Recursos.....	20
4.2 Cronograma.....	21
4.3 Presupuesto.....	22

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANEXOS

1. Matriz de consistencia	27
2. Instrumentos de recolección de datos.....	28

CAPITULO I PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

1.2

Varios estudios experimentales en animales han expresado su preocupación con respecto a la susceptibilidad del cerebro en desarrollo con algún agente anestésico, que puede llevar a déficits funcionales y de comportamiento neurológico (1). Debido a la plasticidad del sistema nervioso en desarrollo, la eficacia y toxicidad de los analgésicos y anestésicos pueden ser diferentes en la vida temprana. Esto ha sido confirmado por datos de laboratorio recientes que muestran un desarrollo de neuroapoptosis y déficits funcionales a largo plazo después de la anestesia general en el período neonatal (2). El aumento de la utilización de técnicas neuroaxiales se ha sugerido como un medio para reducir estos riesgos potenciales (3). La analgesia neeuroaxial se ha demostrado en modelos de desarrollo, con la administración intraespinal y epidural, pero existen alteraciones significativas relacionadas con la edad, dosis y la susceptibilidad a los efectos secundarios (4).

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Qué alteraciones anatomopatológicas existen a nivel medular en ratas albinas neonatales sometidas a administración intraespinal de morfina

1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar las variaciones anatomopatológicas medulares de las ratas albinas neonatales sometidas a la administración morfina intraespinal.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las variaciones anatomopatológicas medulares: alteraciones morfológicas y disminución de neuronas de la asta dorsal por campo.
- Determinar las variaciones anatomopatológicas a nivel de las neuronas gliales de la medula : variaciones morfológicas , gliosis en las ratas albinas neonatales sometidas al uso de morfina intraespinal.

1.4 JUSTIFICACIÓN

La administración de medicamentos intraespinales, que se produce en el contexto de un ensayo clínico, debe requerir un consentimiento informado que expresa los riesgos potenciales y la seguridad de la técnica neuroaxial. A falta de los datos preclínicos, lo que puede decirse acerca de la seguridad de cualquier agente en el recién nacido, es muy escaso. Tales preocupaciones de hecho han dado lugar a cambios en la política de varias revistas, que tienen que aceptar los ensayos basados en el uso no aprobado neuroaxialmente (5). Teniendo en cuenta el importante impacto de la posibilidad de neurotoxicidad inducida por la anestesia general en la salud pública, parece apropiado realizar un estudio sobre las alteraciones anatomopatológicas de la administración intraespinal de morfina en ratas albinas neonatales (6).

Más datos específicos que comparen la eficacia y la seguridad relativa de los analgésicos espinales en los ensayos preclínicos son esenciales para informar a la elección clínica entre los futuros analgésicos intrarraquídeos. A pesar de este imperativo, no hay informes de modelos validados para la evaluación de la seguridad de los medicamentos intraespinales en recién nacido (7).

También podemos determinar si la administración intraespinal de medicamentos puede facilitar el diseño de modelos experimentales de dolor en animales.

Reconocimiento de los daños producidos en la medula por la administración intraespinal de morfina en animales recién nacidos, tiene un impacto en su desarrollo funcional neurológico a largo plazo (8).

1.5 LIMITACIONES

Ratas neonatales (*Rattus norvegicus*, variedad albina, cepa Sprague Dawley) sanas. Hembras y machos, de 3, 10 y 21 días de vida (P3, P10 y P21, respectivamente y de pesos corporales entre 6 a 14 g (P3), entre 26 y 34 g (P10), entre 61 y 70 g (P21).

1.6 VIABILIDAD

Los procedimientos se llevarán a cabo de concordante con los protocolos aprobados por el Area de Patología Experimental de la Facultad de Medicina de la Universidad Ricardo Palma

2. MARCO TEORICO

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

Se ha informado que la anestesia general prolongada en ratas de 7 días de nacidas (P7), aumenta la apoptosis en la médula espinal, y la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) mediante su Comité Asesor de Fármacos Anestésicos y Soporte Vital ha declarado que "*el potencial de neurodegeneración a nivel de la médula espinal inducida por agente anestésicos, debe ser evaluada, en particular con respecto a los anestésicos locales y opioides administrados neuroaxialmente*"(5). Westin (2010) menciona que las técnicas neuroaxiales pueden minimizar los riesgos potenciales, pero no ha habido una evaluación sistemática de la seguridad de los analgésicos espinales en modelos de desarrollo (6).

Los opioides intraespinales se administran para el tratamiento del dolor perioperatorio en niños mediante bolos o infusión (7). Beyaz (2011) realizó un estudio transversal, retrospectivo el cual la población era de 2200 niños en el Hospital Pediátrico Diyarbakir de Turquía, un 94% recibió un bloqueo caudal y se utilizó

opiáceos como adyuvante en 80% de los pacientes, siendo la morfina el adyuvante más preferido (57%) (8).

2.2 BASES TEORICAS

La anestesia intraespinal se usa cada vez más en los pacientes pediátricos para proporcionar analgesia postoperatoria y la anestesia intraoperatoria, pero su utilidad clínica está limitada por la duración de acción de los anestésicos locales de la columna vertebral (9). El uso de anestésicos regionales, ya sea como adyuvantes, anestésicos primarios o analgesia postoperatoria, es cada vez más común en la práctica pediátrica. Los datos sobre la seguridad siguen siendo limitados debido a la escasez de estudios muy gran escala potenciales que son necesarios para detectar eventos de baja incidencia, aunque varios estudios bien se han publicado o han comunicado de forma preliminar (10). A pesar de las virtudes de los analgésicos administrados vía espinal y anestésicos locales para controlar el dolor durante y después de la cirugía son evidentes, el rendimiento de la anestesia regional en niños sanos debe exigir la demostración de una elevada relación terapéutica. Las preocupaciones sobre la toxicidad potencial de analgésicos espinales se siguen planteando y aunque las complicaciones neurológicas aparentemente son raras, se ha sugerido que un solo caso puede ser suficiente para cambiar la práctica clínica, llevar la técnica en el descrédito, y por lo tanto negar muchos niños los beneficios de la analgesia regional (11). A falta de los datos preclínicos, lo que puede decirse acerca de la seguridad de cualquier agente en el recién nacido. Más datos específicos que comparen la eficacia y la seguridad relativa de los analgésicos espinales en los ensayos preclínicos son esenciales para informar a la elección clínica entre los futuros analgésicos espinales actualmente disponibles y potenciales. A pesar de este imperativo, no hay muchos informes de modelos validados para la evaluación de la seguridad de los medicamentos neuroaxiales en el desarrollo temprano (12).

Las acciones morfina intraespinal

La morfina intraespinal produce efectos antinociceptivos en todas las edades. La variabilidad en la sensibilidad a la morfina en la vida temprana probablemente se refiere a las diferencias en el intervalo de dosis estudiada y el estímulo de prueba (mecánica o térmica) utilizada (13). Esto puede relacionarse con los cambios postnatales en la distribución del receptor μ -

opioide, debido a una mayor proporción de fibras tipo A del ganglio de la raíz dorsal, que expresan receptores mu opioides funcionales en la vida temprana, pero no hay expresión relativamente constante en pequeñas fibras C termoreceptivas. Además, los cambios significativos en la densidad y distribución de los receptores mu opioides en la médula espinal en las 3 primeras semanas posnatales influiría en los requerimientos de morfina por vía intraespinal (14).

La dosis intraespinal: Estudios Preclínicos vs Clínicos

En los estudios, las dosis se presentan como masa de fármaco por kilogramo de peso corporal. Esto está de acuerdo con muchos estudios clínicos. La dosis analgésica mínima se ha reportado que está en el rango de beneficio (5-7 mg/kg) en los lactantes y niños humanos (15). Sin embargo, nos gustaría destacar que el pensamiento acerca de la toxicidad por vía intraespinal está fuertemente relacionada con la concentración local²⁰. En estos estudios preclínicos, la dosis analgésica y concentraciones máximas tolerables de morfina fueron de 20 mg/ml y 6-20 mg/ml, respectivamente. En los niños, las concentraciones de infusión epidural están en el intervalo de 10mg/ml de morfina, la concentración utilizada para bolos intraespinal y epidural o caudal variará y dependerá a menudo del volumen de los anestésicos locales añadidos (16).

Al evaluar la susceptibilidad a la apoptosis en los estudios de laboratorio, una dificultad importante es relacionar los resultados a dosis “clínicamente relevantes”. Los estudios de apoptosis para una anestesia general, han relacionado dosis que producen toxicidad en el laboratorio para cualquiera de los niveles plasmáticos o similares efectos funcionales (por ejemplo, ED 50 para la sedación) (17). Debido a las diferencias en los mecanismos subyacentes, los efectos analgésicos no pueden funcionar en paralelo con todas las formas de toxicidad en todas las especies. Sin embargo, el grado de neuroapoptosis después de la anestesia general varía con la dosis y la edad en roedores y primates, enfatizando así la necesidad de evaluar un rango de dosis de diferentes edades en un modelo de desarrollo de la toxicidad de la médula (18).

Evaluación histopatológica de la médula espinal

En los adultos, la infusión intraespinal crónica de morfina se ha utilizado para el tratamiento clínico de dolor de cáncer y no oncológico (19). Aunque granulomas pericatéter se han asociado con altas concentraciones de infusiones de morfina por vía intraespinal, tales resultados no han sido observado con la administración de un bolo único o repetida de morfina intraespinal o epidural, y la morfina no produjo la histopatología en la médula espinal (20).

En el estudio de pacientes de cáncer postmortem, el tumor se ha encontrado en la columna vertebral, pero no se evidencio déficit neurológico adicional o cambios neuropatológicos que se hayan atribuido a la infusión crónica de morfina (21).

En el cerebro de roedores, la vulnerabilidad a la acción proapoptótico de fármacos antagonistas de la NMDA, depende de la edad postnatal, con aumento de la velocidad apreciable de la apoptosis espontánea o fisiológico (22). La apoptosis espontánea en la médula espinal se produce predominantemente en la asta ventral en la etapa prenatal y el asta dorsal en la etapa postnatal (23).

La exposición prolongada a opioides se ha demostrado que produce la apoptosis en roedores adultos, y esta forma de neurotoxicidad puede contribuir a los trastornos neurológicos asociados con el abuso de opiáceos (24). Aumentos en células apoptóticas dosis-dependiente fueron encontrados en la lámina I y II después de 7 días de la administración morfina intraespinal y morfina sistémica crónica, pero no se evidencio apoptosis en una sola dosis, en los cerebros de ratones adultos.

Los opioides activan las células gliales en el sistema nervioso central, inducen la liberación de mediadores proinflamatorios, que a su vez alteran la eficacia y promueven los efectos secundarios de los opioides (25).

a) DEFINICIONES DE TERMINOS

- ***Adyuvante:*** Sustancia añadida a otra la cual aumenta su efecto principal. (26)
- ***Analgesia:*** Disminución en progreso de la percepción del dolor, la cual no afecta a otros sentidos. (26)
- ***Anestesia General:*** Se caracteriza por brindar hipnosis, amnesia, analgesia, relajación muscular y abolición de reflejos. (26)

- **Anestesia Neuroaxial Epidural:** Técnica donde se introduce el anestésico en las proximidades de la médula en el espacio epidural. (26)
- **Anestesia Neuroaxial Intraespinal:** Técnica donde se administra anestésico en el espacio raquídeo la cual se mezcla con el líquido cefalorraquídeo. (26)
- **Anestesia Neuroaxial:** Es el proceso por el cual se actúa bloqueando el impulso doloroso a nivel de la médula espinal. (26)
- **Anestesia:** Es un procedimiento controlado en donde se usan fármacos para bloquear la sensibilidad táctil y dolorosa de un paciente ya sea parcial o total. (26)
- **Anestésico local:** Son aquellos fármacos los cuales bloquean de modo reversible la transmisión del impulso nervioso, lo que brinda la pérdida de sensibilidad. (26)
- **Bloqueo Caudal:** Se consigue bloqueando las vías nerviosas en región pélvica mediante la inyección de un anestésico en la región caudal. (26)
- **Dolor:** Una experiencia sensorial y emocional desagradable con daño tisular actual o potencial o descrito en términos de dicho daño. (26)
- **Dosis Letal (DL):** Unica dosis para producir la muerte una vez sea absorbida, se utilizan procedimientos en animales para su cálculo. (26)
- **Dosis Letal 50 (DL50):** Dosis unica para producir la muerte tras una sola absorción, en el 50% de animales. (26)
- **Intraespinal:** Espacio donde fluye el líquido cefalorraquídeo que se encuentra alrededor de la médula espinal. (26)
- **Opioide:** Farmaco usado para la analgesia, puede provocar dependencia y tolerancia si se consume de forma continuada. (26)
- **Morfina:** Derivado del opio, adictivo, con propiedades nalgésicas muy potentes. (26)
- **Murino:** subfamilia de roedores perteneciente a la familia Muridae, en los cuales estan incluidos los mas comunmente llamados ratones. (26)
- **Neonato:** Recién nacido es un ser que tiene 27 días o menos desde su nacimiento, bien sea por parto o por cesárea. (26)
- **Neuroapoptosis:** Muerte celular programada en el cerebro,el cual forma parte de la interaccion del desarrollo y crecimiento celular. (26)
- **Toxicidad:** Nivel de efectividad de una sustancia tóxica. (26)

2.4 HIPÓTESIS

El conjunto de ratas albinas neonatales sometidas a la aplicación de morfina intraespinal tendrán mayores variaciones histológicas a nivel medular, en comparación con el conjunto de ratas control.

3.METODOLOGÍA

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio experimental verdadero, la población de 80 ratas albinas neonatales se distribuyen de forma aleatoria a cada uno de los grupos (control y experimental), se realizará una medición basal.

3.1.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

- Es un estudio prospectivo, ya que se captará la información después del planeamiento, y se observará el efecto en la variable en el futuro.
- Es un estudio longitudinal, ya que las variables en el estudio se medirán en tres ocasiones, se realizará seguimiento de la población y así poder realizar las comparaciones entre los dos grupos de estudio.
- Es un estudio comparativo, ya que existen dos grupos controles para poder determinar las comparaciones de las variaciones anatomopatológicas.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 POBLACION

Ratas albinas 5 machos y 10 hembras del Instituto Nacional de Salud (Av. Defensores del Morro 2268 - Ex Huaylas) Chorrillos, Lima 9 Teléfono (511) 7480000).

3.2.2 MUESTRA

La muestra estará constituida por 80 ratas albinas neonatales de laboratorio (3, 10 y 21 días de vida) de sexo masculino y femenino, *Rattus norvegicus*, variedad albina, cepa Sprague Dawley.

3.2.3 SELECCIÓN DE MUESTRA

Los grupos serán asignados aleatoriamente a seis grupos de investigación:

- **Grupo A:** Estará conformado por 15 ratas albinas neonatales de laboratorio (3, 10 y 21 días de vida) hembras y machos que recibirán 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso de morfina intraespinalmente.
- **Grupo B:** Estará conformado por 15 ratas albinas neonatales de laboratorio (3, 10 y 21 días de vida) de hembras y machos que recibirán 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso de morfina intraespinalmente.
- **Grupo C:** Estará conformado por 15 ratas albinas neonatales de laboratorio (3, 10 y 21 días de vida) de hembras y machos que recibirán 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso de morfina intraespinalmente.
- **Grupo D:** Estará constituido por 15 ratas albinas neonatales de laboratorio (3, 10 y 21 días de vida) de hembras y machos que recibirán 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso de morfina intraespinalmente.
- **Grupo E:** Estará constituido por 5 ratas albinas neonatales de laboratorio (21 días de vida) de hembras y machos que recibirán 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso de morfina intraespinalmente.
- **Grupo F:** Estará constituido por 15 ratas albinas neonatales de laboratorio (3, 10 y 21 días de vida) de hembras y machos que recibirán cloruro de sodio 0.9% intraespinalmente.

3.3 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

3.3.1 VARIABLES

INDEPENDIENTE

- Administración de morfina intraespinal.

DEPENDIENTE

- Área en promedio de neuronas sin necrosis.
- Porcentaje promedio de neuronas necróticas.
- Cantidad en números de células gliales

3.4 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Todos los experimentos se llevarán a cabo de acuerdo con protocolos aprobados por el Comité de Patología Experimental de la Facultad de Medicina de la Universidad Ricardo Palma.

Las 10 ratas embarazadas y 5 ratas machos (*Rattus norvegicus*, variedad albina, cepa Sprague Dawley), serán alojadas de acuerdo a un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas con acceso libre a comida y agua. El trabajo se realizará en tres etapas:

ETAPA PREEXPERIMENTAL:

Jaula

- Se comprará la morfina y material necesario para la administración intraespinal.
- Se contará con un juego de filamentos de von Frey para realizar las pruebas nociceptivas.
- Se fabricarán 15 jaulas para albergar los 95 animales de experimentación, en una primera etapa se colocarán 3 animales (dos hembras y un macho) de experimentación en cada jaula. Para la siguiente etapa se colocarán a las 10 hembras con sus crías en jaulas individuales y los 5 machos restantes en las jaulas que quedan.
- Las jaulas tendrán un área de 30 cm x 20 cm x 20 cm. El armazón estará conformado por una malla metálica gruesa con trabéculas de 0,5 pulgadas,
- Se usarán como bebederos, recipientes de vidrio de 500 mL, las cuales tendrán una tapa rosca con un agujero en el centro en donde se colocará una cánula de vidrio única a un gotero. El orificio será de bordes lisos y uniformes realizados con un soldador de estaño de pequeñas dimensiones.
- El bebedero se insertará en un desnivel con un ángulo de 30° el cual se encontrará en la parte superior de la jaula, el desnivel la cual será similar a una rampa tendrá un orificio para que pueda ser colocado la cánula de vidrio, las trabéculas de la malla serán aproximadamente 0.25 pulgadas, mitad de la dimensión de las trabéculas de las jaulas para así evitar que los animales muerdan la tapa de plástico.

- Se creará un comedero con malla gruesa con trabéculas de 0.25 pulgadas el cual será ajustado y suspendido en la parte superior de la jaula, este comedero tendrá un área 10 cm x 5 cm x 5 cm . En la parte superior no tendrá malla para poder colocar adecuadamente la comida sin necesidad de abrir la jaula.
- Se colocará en el comedero una cantidad de cebada hasta que llegue al tope para así el peso de los granos la mantenga firme y se evite caídas.
- Las jaulas tendrán una puerta que se abre hacia fuera con un gancho como medio de seguridad.
- Las jaulas estarán llenas con virutas esterilizadas las cuales llegarán a una altura de 5cm, las jaulas estarán separadas de la superficie por medio de aserrín.

Alimento

- El alimento el cual comerán los animales será cebada la cual será administrado de 10 mg cebada/Kg de masa corporal/día.
- La cebada estará libre de algún proceso industrial, su cubierta es muy fina la cual el animal lo podrá retirar con facilidad para su consumo.
- Se le brindará agua potable de acceso libre en una cantidad de 250 mL aproximado.

Ratas neonatales

- Las crías machos y hembras en P3, P10 y P21 (3, 10 y 21 días de vida), serán asignadas al azar a los grupos de tratamiento. La manipulación y la separación de la camada se mantienen al mínimo.

Bioterio

- Se coordinará para el permiso del uso de una de las áreas del sótano del bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Ricardo Palma.
- El área asignada cuenta con 12 espacios, 6 en la parte inferior y 6 en la parte superior dispuestas a cada lado. Posee pequeñas ventanas en la parte superior para la entrada de aire.

- Se dispondrá de un microclima con temperatura de 20 °C la cual será constante mediante un calentador eléctrico y un intervalo de tiempo entre luz y oscuridad que será de 12h cada uno para así no someter a estrés a los animales de los grupos y así que estén en un mejor habitat para su desarrollo.
- Los 2 espacios restantes se alojarán las herramientas usadas en el manejo de los animales de estudio y en el otro espacio se colocarán los sacos de alimentos, aserrín y viruta.
- Se tendrá un área de desechos el cual se encontrará fuera del espacio de experimentación para que genere la aparición de moscas o contaminación.
- La limpieza del bioterio se llevará a cabo 3 veces por semana, solo se utilizará para la limpieza agua, trapeador, escoba entre otros siendo implementos básicos para la limpieza del área.
- El ingreso a la habitación del bioterio será cubierto con mandil y adecuado lavado de manos, fuera del espacio se hallarán 3 fuentes de agua potable, y una mesa de mayólica la cual servirá para la realización de procedimientos como la administración intraespinal y el sacrificio de los animales de estudio.
- El horario de trabajo experimental será entre las 6am-7pm.

ETAPA EXPERIMENTAL

- Cuando llega el nacimiento de los animales de experimentación se realizará el pesaje y se dividirán en 6 grupos por aleatorización: un control (Grupo F) y cinco experimental.
- El conjunto de animales experimentales se subdividió en cinco subgrupos: Se le pintará la parte dorsal para identificarlos.
 - Grupo A: Verde
 - Grupo B: Amarillo
 - Grupo C: Naranja
 - Grupo D: Rojo
 - Grupo E: Azul

Preparación de la morfina

- **PRECAUCIÓN:** Se usará guantes estériles, mascarilla y protección ocular al manipular la ampolla y la preparación de las soluciones.
- La morfina clorhidrato (Inyectable 10mg/ml x 1 ml), se diluyó en solución salina al 0.9% (1000 mL), se obtendrá una solución de morfina 10 µg/mL.

La inyección intraespinal

- Se anestesiará a la rata neonatal con sevoflurano 3%, hasta que no pueda poder enderezarse a su vez se corrobora con un piquete en la cola y/pata para estar seguros de que esté con anestesia.
- Se colocará a la rata neonatal una máscara en la nariz para la administración continua de sevoflurano, se mantendrá el sevoflurano al 1,5%, y se colocará lubricante en los ojos para evitar lesiones de córnea.
- Se usarán microinyectores de microlitros con agujas 29 G x ½ precargados con la morfina de la siguiente manera:

<i>Dosis de Morfina Intraespinal</i>	
Dosis (por kg de peso corporal)	Concentración a Inyectar
1 µg/kg	2 µg/ml
3 µg/kg	6 µg/ml
10 µg/kg	20 µg/ml
30 µg/kg	60 µg/ml
150 µg/kg	300 µg/ml
Volumen inyectado de 0.5 o 1.0 µl/g de peso corporal	

- Se palpará la prominencia de la apófisis espinosa de L6, se fijará esta parte de la columna con una suave presión.
- Insertar con cuidado la aguja entre los espacios de L5 y L6 y se verificará el ingreso de la aguja en el espacio raquídeo cuando haga una retirada de cola.
- **Nota 1:** No se debe usar la uña, para localizar el espacio L5 y L6. Una vez que se observe la retirada de la cola, con cuidado se procederá asegurar la aguja y se inyectara la morfina lentamente con la mano que esté libre.
- **Nota 2:** Un volumen de entre 5 a 10 µl es óptimo, ya que menos de 5 µl podría no tener el efecto deseado y un volumen más de 10 µl podría generar aumento de presión en el espacio intrarraquídeo.

- **Nota 3:** Se agregara a la morfina una solución de azul de metileno 5% para la confirmación de la distribución intraespinal.
- Una vez que se realice la inyección, colocar a la rata neonato en su jaula para su recuperación.

Evaluación de Umbral de Dolor (Retiro de las patas traseras)

- El primer conjunto de medidas de referencia debe realizarse 48 horas antes de la administración del tratamiento.
- Se medirán los umbrales de retirada mecánica luego de 30 minutos de inyectada la solución salina o morfina por vía intraespinal
- Con las dos manos (con guantes estériles), las ratas neonatales fueron ligeramente reprimidas en una superficie plana y se usarán los filamentos de von Frey calibrados, que proporcionan el aumento de los estímulos mecánicos (0,4-60 g).
- Se aplicará la fuerza a la superficie dorsal de la pata trasera, cinco veces a intervalos de 1s. Aumentar la presión gradualmente hasta que las conductas de respuesta nociceptiva estén definidas.

Análisis Anatomopatológico

- Luego de 2 h de la inyección intraespinal, los animales se les administra pentobarbital 100 mg/kg por vía intraperitoneal, serán perfundidos transcardialmente con solución salina seguido de 1 ml/g de peso corporal de 4% de formaldehído.
- Después de la laminectomía, la médula espinal se diseccionó cuidadosamente y se eliminará con la duramadre, ganglios de la raíz dorsal, y las raíces nerviosas proximales, se debe minimizar cualquier trauma.
- El tejido se fijará posteriormente en formaldehído al 4% durante 48h.
- Se realizarán secciones transversales de tres milímetros de largo de la médula espinal, se cortaran caudal a la ampliación lumbar y justo rostral al nivel de las inyecciones, se cortan secciones de 14 micras, las cuales serán montadas en portaobjetos.

3.6 RECOLECCIÓN DE DATOS

Evaluación Basal del Umbral de Dolor (Retiro de las patas traseras)

- Indicar al ayudante que transcriba la presión que provocó el comportamiento observado.
- Para cada rata neonatal, se calcula el valor medio de las cinco mediciones, y luego se calcula la cantidad de cada valor que se desvía de la media.
- Seleccione los valores que se desvían lo más mínimo, y el promedio de ellos para obtener un umbral de retirada de la línea basal, la medición se ha estandarizado mediante el uso de 3 de cada 5 valores;
- Para calcular el umbral medio de retirada de línea de base de una rata, si el umbral medio de retirada de línea de base es inferior a 3,50 g, o si los dos umbrales de referencia difieren en 2,00 g o más, se deberá excluir la rata del experimento.
- Estos criterios aseguraron que todas las ratas en el experimento tengan respuestas de líneas basales consistentes, y umbrales suficientemente altos de retirada que permiten la observación de umbrales más bajos tras el tratamiento.

Análisis Morfométrico Espinal

- Se evaluarán los cambios histopatológicos (en particular los signos morfológicos de la apoptosis, así como neuronofagia, nódulos microgliales, desmielinización, o gliosis) por un neuropatólogo (MG) que desconoce el grupo de tratamiento. En el estudio histológico se utilizó microscopía de luz a 200X hasta 400X.
- La difusión de tinte será evaluada por visualización microscópica y se expresará como el número de segmentos vertebrales por encima del nivel de inyección.
- Las inyecciones intraespinales se definieron por la tinción que se limita a la médula espinal y el líquido cefalorraquídeo (LCR) sin tinción en el espacio epidural o dentro de los tejidos paravertebrales.

- Se realizó la comparación de los datos obtenidos en el estudio morfométrico con el programa JMicrovision 1.2.5, el cual redibujara el perfil neuronal y poder determinar el área de superficie de cada uno.
-

3.5 TECNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION

El procesamiento de los datos obtenidos se efectuará en el programa SPSS para Windows versión 22.0. Se obtendrá la estadística univariada basada en frecuencias, medidas de tendencia central, porcentajes y de dispersión relativa.

Para determinar si existe la presencia de diferencia estadísticamente para las variables de área, porcentaje promedio de neuronas necróticas, peso, área promedio de neuronas sin necrosis y el número de glías se usará el análisis de varianza ANOVA previa demostración de la homogeneidad de varianza con el test de Levene. Las diferencias entre grupos de estudio estarán determinadas mediante análisis post hoc con el test de Scheffe, con un intervalo de confianza del 95 %.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

- Las ratas de estudio en todo momento tuvieron suministros de agua y alimentos a disposición ad libitum
- Se realizó el cambio del aserrín 3 veces por semana para evitar contaminación.
- No se realizaron procedimientos que pudieran causar dolor de manera intencional o que no fuesen necesarios.
- Mantenimiento del bioterio 2 veces/ semana.

CAPITULO IV

4. RECURSOS Y CRONOGRAMA

4.1 RECURSOS

4.1.1 RECURSOS HUMANOS

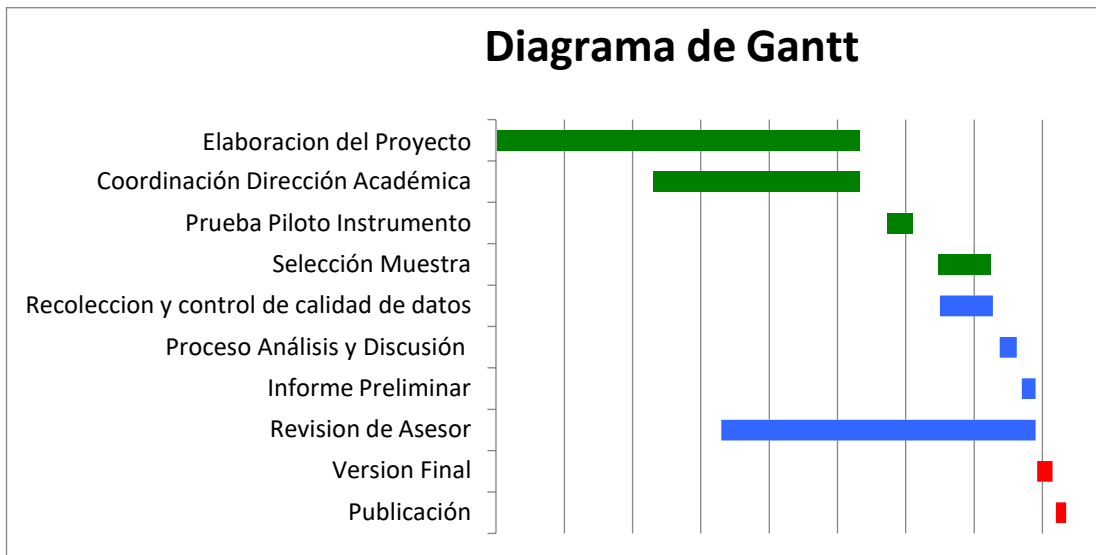
<i>NOMBRE</i>	<i>CARGO</i>	<i>FUNCIÓN</i>	<i>HORAS/ SEMANA</i>	<i>Nº DE SEMANAS</i>
DR. MARITZA RAISA YRAIDA FERNANDEZ ROJAS	AUTOR	DISEÑO PROYECTO	12	24
DR. RAFAEL DÍAZ R.	ASESOR	NEUROPATOLOGO	2	3
DRA. DIANA RIVAS F.	ASESORA	NEUROPATOLOGA	10	3
DR ALAN ROBINET VARGAS.	COLABORADORA	ESTADISTICA	12	24
ING. JESUS NAVARRO P.	COLABORADOR	OPERATIVIDAD	12	10

4.1.2 RECURSOS MATERIALES

- Cámara de Video Sony HDR-CX405
- Cámara Digital Sony 16 MB
- Impresora HP Laser Jet P1102w
- Impresora HP Photosmart C4180
- Laptop HP 245
- iPad 3
- Microscopio óptico (Zeiss)
- Micrótopo
- Centrífuga (IEC)
- Fotocolorímetro
- Láminas portaobjetos y cubreobjetos
- Armario
- 15 jaulas con sus bebederos
- Set de filamentos de Von Frey calibrados
- Calefactor portátil Miray
- Equipo microinyector (microlitros)

4.2 CRONOGRAMA

Diagrama de Gantt



4.3 PRESUPUESTO

BIENES	DESCRIPCIÓN	UNIDAD	PRECIO UNIT. S/.	TOTAL
Equipamiento de Bioterio	Animales	15	15.00	125.00
	Alimento	50	4.00	200.00
	Jaulas metálicas	15	10.00	150.00
	Comederos	15	2.00	30.00
	Bebederos	15	2.00	20.00
	Bidón para agua	2	10.00	20.00
Material de Limpieza y Bioseguridad	Detergente 10 Kg	1	15.00	15.00
	Baldes	1	10.00	10.00
	Escoba	1	6.00	6.00
	Espanja	2	0.50	1.00
	Recogedor	1	2.00	2.00
	Guantes	1	5.00	5.00
	Bolsas basura	30	0.20	6.00
	Pintura	1	15.00	15.00
	Candado	1	10.00	10.00
	Botiquín	1	10.00	10.00
	Extintor	1	25.00	25.00
Material de experimentación	Morfina Clorhidrato 20mg/ml x 1mL	10	3.00	30.00
	Sevoflurano 100 % (250 mL)	1	330.00	330.00
	Formol 10 % (1L)	1	40.00	40.00
	Alcohol Metílico 70 (1L)	1	30.00	30.00
	Láminas Portaobjetos (100 unid)	4	25.00	100.00
	Hisopos hipoalérgicos (1000 unid)	1	30.00	30.00
	Agujas 29 G x ½ (unid)	200	0.50	100.00
Material de escritorio	Hojas Bond A-4 (millar)	2	15.00	30.00
	Lapiceros	10	1.50	15.00
	Toner HP Laserjet	1	100.00	100.00
	Cartuchos HP Photosmart	2	60.00	120.00
Otros				
			SUBTOTAL	1575.00

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Olney JW, et al. Anesthesia induced developmental neuroapoptosis: Does it happen in humans? *Anesthesiology* 2004; 101:273-5.
2. Tong D, Ma Z, Su P, Wang S, Xu Y, Zhang LM, Wu Z, Liu K, Zhao P. Sevoflurane-Induced Neuroapoptosis in Rat Dentate Gyrus Is Activated by Autophagy Through NF- κ B Signaling on the Late-Stage Progenitor Granule Cells. *Front Cell Neurosci.* 2020 Dec 15;14:590577.
3. Ibla JC. Neurodegeneración y anestesia pediátrica. El debate continua. *Rev Colomb Anesthesiol.* 2018;46:95.
4. Sulpicio G Soriano , Mary Ellen McCann. Is Anesthesia Bad for the Brain? Current Knowledge on the Impact of Anesthetics on the Developing Brain. *Anesthesiol Clin,* 2020 Sep;38(3):477-492.
5. Loepke AW, Soriano SG: An assessment of the effects of general anesthetics on developing brain structure and neurocognitive function. *Anesth Analg* 2008; 106:1681-707
6. Lei SY, Hache M, Loepke AW. Clinical research into anesthetic neurotoxicity: does anesthesia cause neurological abnormalities in humans? *J Neurosurg Anesthesiol.* 2014 Oct;26(4):349-57.
7. Whyte E, Lauder G. Intrathecal infusion of bupivacaine and clonidine provides effective analgesia in a terminally ill child. *Paediatr Anaesth.* 2012 Feb; 22(2):173-5. doi: 10.1111/j.1460-9592.2011.03672.x.
8. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research: Anesthetic and Life Support Drugs Advisory Committee Meeting Minutes March 29, 2007.
9. Westin et al. Validation of a Preclinical Spinal Safety Model. Effects of Intrathecal Morphine in the Neonatal Rat. *Anesthesiology.* 2010 Jul; 113(1): 183–199. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181dcd6ec
10. Pediatric Anesthesia. Special Issue: Good Practice in Postoperative and Procedural Pain Management, 2nd Edition. Vol. 22, Issue Supplement s1, pag. 1–79, July 2012. DOI: 10.1111/j.1460-9592.2012.03838.x
11. Beyaz SG, et al. Regional anaesthesia in paediatric surgery: results of 2200 children. *J Pak Med Assoc.* 2011 Aug; 61(8):782-6.
12. Polaner et al. Pediatric Regional Anesthesia Network (PRAN): a multi-institutional study of the use and incidence of complications of pediatric regional anesthesia. *Anesth Analg.* 2012 Dec; 115(6):1353-64. doi:10.1213/ANE.0b013e31825d9f4b.

13. Polaner DM, Drescher J. Pediatric regional anesthesia: what is the current safety record? *Paediatr Anaesth*. 2011 Jul; 21(7):737-42. doi: 10.1111/j.1460-9592.2010.03499.x.
14. Lyu D, Tang N, Womack AW, He YJ, Lin Q. Neonatal ketamine exposure-induced hippocampal neuroapoptosis in the developing brain impairs adult spatial learning ability. *Neural Regen Res*. 2020 May;15(5):880-886.
15. Walker SM, Grafe M, Yaksh TL. Intrathecal clonidine in the neonatal rat: dose-dependent analgesia and evaluation of spinal apoptosis and toxicity. *Anesth Analg*. 2012 Aug; 115 (2):450-60. doi: 10.1213/ANE.0b013e3182501a09.
16. Wu HE, et al. Antianalgesia: stereoselective action of dextro-morphine over levomorphine on glia in the mouse spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005 Sep; 314(3):1101-8. doi: 10.1124/jpet.105.087130.
17. Ghersi-Egea JF, et al. Changes in the cerebrospinal fluid circulatory system of the developing rat: quantitative volumetric analysis and effect on blood-CSF permeability interpretation. *Fluids Barriers CNS*. 2015 Mar 10;12:8. doi:10.1186/s12987-015-0001-2.
18. Dalens BJ, Truchon R. In: *Neural blockade for pediatric surgery, Neural Blockade in Clinical Anesthesia and Pain Medicine*. 4th Edition Cousins MJ, Bridenbaugh PO, Carr D, Horlocker T, editors. Lippincott, Williams & Wilkins; Philadelphia: 2009. pp. 595–629.
19. Stefano GB, et al. Endogenous morphine: up-to-date review 2011. *Folia Biol (Praha)*. 2012; 58(2):49-56.
20. Zhang X, Bao L. Interaction and regulatory functions of μ - and δ -opioid receptors in nociceptive afferent neurons. *Neurosci Bull*. 2012 Apr;28(2):121-30. doi: 10.1007/s12264-012-1206-x.
21. Eschertzhuber S, et al. Comparison of high-and low-dose intrathecal morphine for spinal fusion in children. *Br J Anaesth*. 2008 Apr;100(4):538-43. doi: 10.1093/bja/aen025.
22. Mégarbane B, Weinberg GL. Hypotension and status epilepticus in relation to intrathecal morphine administration. *Am J Emerg Med*. 2020 Aug;38(8):1682-1683.
23. Allen JW, et al. Time course and role of morphine dose and concentration in intrathecal granuloma formation in dogs: a combined magnetic resonance imaging and histopathology investigation. *Anesthesiology*. 2006 Sep; 105(3):581-9.
24. Lyu D, Tang N, Womack AW, He YJ, Lin Q. Neonatal ketamine exposure-induced hippocampal neuroapoptosis in the developing brain impairs adult spatial learning ability. *Neural Regen Res*. 2020 May;15(5):880-886.

25. Simmons CP, Macleod N, Laird BJ. Clinical management of pain in advanced lung cancer. *Clin Med Insights Oncol.* 2012; 6:331-46. doi: 10.4137/CMO.S8360.
26. Duarte RV, et al. Intrathecal granuloma formation as result of opioid delivery: systematic literature review of case reports and analysis against a control group. *Clin Neurol Neurosurg.* 2012 Jul;114(6):577-84. doi: 10.1016/j.clineuro.2011.12.007.
27. Wagemans MF, et al Neurohistopathological findings after continuous intrathecal administration of morphine or a morphine/bupivacaine mixture in cancer pain patients. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1997 Sep;41(8):1033-8. doi:10.1111/j.1399-6576.1997.tb04832.x
28. Ikonomidou C, et al. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science.* 1999 Jan 1;283(5398):70-4. doi: 10.1126/science.283.5398.70.
29. De Louw AJ, et al. Apoptosis in the rat spinal cord during postnatal development; the effect of perinatal asphyxia on programmed cell death. *Neuroscience.* 2002;112(4):751-8. doi:10.1016/S0306-4522(02)00134-3.
30. Cunha-Oliveira T, Rego AC, Oliveira CR. Cellular and molecular mechanisms involved in the neurotoxicity of opioid and psychostimulant drugs. *Res Rev.* 2008 Jun;58(1):192-208. doi: 10.1016/j.brainresrev.2008.03.002.
31. Ghafari S, Golalipour MJ. Prenatal morphine exposure reduces pyramidal neurons in CA1, CA2 and CA3 subfields of mice hippocampus. *Iran J Basic Med Sci.* 2014 Mar;17(3):155-61.
32. Hameed H1, Hameed M, Christo PJ. The effect of morphine on glial cells as a potential therapeutic target for pharmacological development of analgesic drugs. *Curr Pain Headache Rep.* 2010 Apr;14(2):96-104. doi: 10.1007/s11916-010-0093-y.
33. Stiene-Martin A, et al. Opioid system diversity in developing neurons, astroglia, and oligodendroglia in the subventricular zone and striatum: impact on gliogenesis in vivo. *Glia.* 2001 Oct;36(1):78-88.
34. Zhang Y, Loh HH, Law PY. Effect of Opioid on Adult Hippocampal Neurogenesis. *Scientific World Journal.* 2016; 2016:2601264. doi: 10.1155/2016/2601264.
35. Njoo C, et al. In vivo SiRNA transfection and gene knockdown in spinal cord via rapid noninvasive lumbar intrathecal injections in mice. *J Vis Exp.* 2014 Mar 22;(85). doi: 10.3791/51229.
36. Martinov T, et al. Measuring changes in tactile sensitivity in the hind paw of mice using an electronic von Frey apparatus. *J Vis Exp.* 2013 Dec 19;(82):e51212. doi: 10.3791/51

ANEXOS

1.

FORMATO 01

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

TITULO DEL PROYECTO

ESTUDIO ANATOMOPATOLOGICO MEDULAR MURINO NEONATAL

SOMETIDO A LA ADMINISTRACION DE MORFINA INTRAESPINAL

1. Investigador Principal

DRA. MARITZA FERNANDEZ ROJAS

2. Miembros del equipo

Nombres y apellidos	Estamento (*)
DR. ALAN ROBINET VARGAS	EGRESADO
ING. JESUS NAVARROS PEREZ	ADMINISTRATIVO

(*) Docente, egresado, estudiante, administrativo.

3. Del Proyecto

ANIMAL/GRUPO	MEDIDA 1 (*)	MEDIDA 2	MEDIDA 3	MEDIDA 4
RATA1/				
RATA 2/				
RATA3/				
RATA4/				
RATA5/				

(*) Numero de filamento de Von Frey

ANIMAL/GRUPO	MEDIDA 1 (*)	MEDIDA 2	MEDIDA 3	MEDIDA 4
RATA1/				
RATA 2/				
RATA3/				
RATA4/				
RATA5/				

(*) Numero de filamento de Von Frey

Lima....de..... del 2022

2. 3MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DISEÑO METODOLÓGICO	POBLACIÓN Y MUESTRA	TÉCNICA E INSTRUMENTOS	PLAN DE ANÁLISIS DE DATOS
¿Qué alteraciones anatomopatológicas existen a nivel medular en ratas albinas neonatales sometidas a administración intraespinal de morfina	<p>OBJETIVO GENERAL Determinar las alteraciones anatomopatológicas medulares de ratas albinas neonatales sometidas a la administración morfina intraespinal.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar las alteraciones anatomopatológicas medulares: alteraciones morfológicas y disminución de neuronas del asta dorsal por campo en las ratas albinas neonatales sometidas a administración morfina intraespinal. • Determinar las alteraciones anatomopatológicas a nivel de las glías de la de la medula: gliosis, alteraciones morfológicas en las ratas albinas neonatales sometidas a administración morfina intraespinal. 	El grupo de ratas albinas neonatales sometidas a administración de morfina intraespinal tendrán mayores alteraciones histológicas a nivel medular, en comparación con el grupo de ratas control.	<p>INDEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> • Administración de morfina intraespinal. <p>DEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> • Área promedio de neuronas sin necrosis. • Porcentaje promedio de neuronas necróticas. • Número de células gliales 	<ul style="list-style-type: none"> • Es un estudio prospectivo, porque se captara la información después de la planeación, observando el efecto de la variable independiente en el futuro. • Es un estudio longitudinal, porque las variables involucradas se medirán en tres ocasiones y porque hay seguimiento para estudiar la evolución de la población y así poder comparar los valores de los grupos control y experimental. • Es un estudio comparativo, porque existe el grupo control y experimental, a fin de comparar las alteraciones anatomopatológicas medulares. 	<p>POBLACION</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ratas albinas 5 machos y 10 hembras del Instituto Nacional de Salud (Av. Defensores del Morro 2268 - Ex Huaylas) Chorrillos, Lima 9 Teléfono (511) 7480000). <p>3.3.2</p> <p>MUESTRA La muestra estará constituida por 80 ratas albinas neonatales de laboratorio (3, 10 y 21 días de vida) de sexo masculino y femenino, Rattus norvegicus, variedad albina, cepa Sprague Dawley.</p>	<p>Todos los experimentos se llevaran a cabo de acuerdo con protocolos aprobados por el Comité de Patología Experimental de la Facultad de Medicina de la Universidad Ricardo Palma. Las 10 ratas embarazadas y 5 ratas machos (Rattus norvegicus, variedad albina, cepa Sprague Dawley), serán alojadas de acuerdo a un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas con acceso libre a comida y agua.</p>	<p>El procesamiento de los datos se realizara con el programa SPSS Se realizara estadística univariada basada en frecuencias, porcentajes, medidas de tendencia central y de dispersión relativa. Para demostrar la presencia de diferencia estadísticamente para las variables peso, área promedio de neuronas sin necrosis, porcentaje promedio de neuronas necróticas y el número de glías se empleara el análisis de varianza ANOVA previa demostración de la homogeneidad de varianza con el test de Levene</p>

3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE RELACION Y NATURALEZA	CATEGORÍA O UNIDAD
ADMINISTRACIÓN DE MORFINA INTRAESPINAL	Suministro vía intraespinal de morfina clorhidrato en una sola aplicación	Cantidad de dosis administrada de morfina intraespinal	Nominal	Dependiente -cuantitativa.	Grupo A: Morfina 1µg/kg Grupo B: Morfina 3 µg/kg Grupo C: Morfina 10 µg/kg Grupo D: Morfina 30 µg/kg Grupo E: Morfina 150 µg/kg Grupo F: Suero salino 0,9%
AREA PROMEDIO DE NEURONA SIN NECROSIS	Superficie determinada por neuronas sin necrosis en el asta dorsal de medula espinal de la rata neonatal		De Razón	Independiente-cualitativa	Área en µm ²
PORCENTAJE DE PROMEDIO DE NEURONAS NECROTICAS	Fracción obtenida mediante el cociente entre la superficie generada por la neuronas necróticas y el número total de neuronas (con o sin necrosis) en el asta dorsal de medula espinal de la rata neonatal		De Razón	Independiente-cualitativa	Porcentaje (%)
NUMERO DE CELULAS GLIALES	Cantidad obtenida mediante el recuento de células gliales en el asta dorsal de medula espinal de la rata neonatal		De Razón	Independiente-cuantitativa	Número de células gliales en el asta dorsal de medula espinal por lámina histológica.

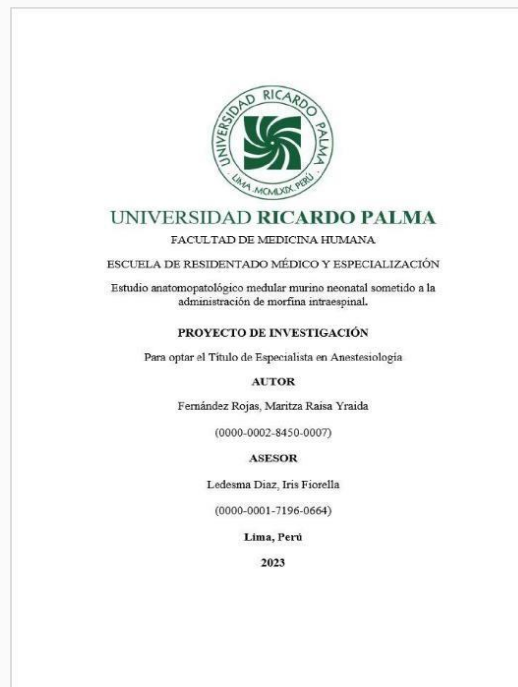
turnitin®

Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega:	Maritza Raisa Yraida Fernández Rojas Proyectos de
Título del ejercicio:	investigación Residentado
Título de la entrega:	Estudio anatomopatológico medular murino neonatal somet...
Nombre del archivo:	Fern_nde_z_Rojas.docx
Tamaño del archivo:	1.13M
Total páginas:	30
Total de palabras:	6,605
Total de caracteres:	36,257
Fecha de entrega:	06-ene.-2023 08:17a. m. (UTC-0500)
Identificador de la entre...	1989187493



Estudio anatomopatológico medular murino neonatal sometido a la administración de morfina intraespinal

INFORME DE ORIGINALIDAD

11 %	11 %	0 %	3 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	7 %
2	repositorio.urp.edu.pe Fuente de Internet	2 %
3	lookformedical.com Fuente de Internet	< 1 %
4	Submitted to Universidad de San Martín de Porres Trabajo del estudiante	< 1 %
5	www.coursehero.com Fuente de Internet	< 1 %
6	es.slideshare.net Fuente de Internet	< 1 %
7	www.jove.com Fuente de Internet	< 1 %
8	www.slideshare.net Fuente de Internet	< 1 %

