

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Profesional de Biología-Microbiología**

**Inducción de fibrosis hepática en roedores sinantrópicos como  
modelo experimental para la investigación – Tacna**

**TESIS**

Presentada por:

**Bach. Lesly Adelis Valdivia Quispe**

Para optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

TACNA - PERÚ

2025

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 435

En la ciudad de Tacna, en el auditorio de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; siendo las 10:00 horas del día 19 de diciembre del 2024, estando presente el jurado calificador denominado por Resolución de Facultad N°11149 - 2024 -FACI/UNJBG, conformado por los siguientes docentes:

DRA. SOLEDAD AMPARO BORNAS ACOSTA	PRESIDENTA
DRA. ÁNGELA VERÓNICA CHOQUE MIRANDA	SECRETARIA
MGR. ROSA MARÍA LIÑAN ABANTO	VOCAL

Acto seguido, se dio lectura de la Resolución correspondiente y del mismo modo se dio lectura al Artículo 22 del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

A continuación, el Presidente del jurado instó a la Bachiller **Lesly Adelis Valdivia Quispe**, a exponer la Tesis Titulada: **Inducción de fibrosis hepática en roedores sinantrópicos como modelo experimental para la investigación – Tacna**, para optar el título profesional de Biólogo Microbiólogo.

Siendo las 10:52 horas la tesista concluye su exposición luego se procedió a la formulación de las preguntas por parte de los miembros del jurado calificador. Terminado este proceso, se instó a que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo al reglamento. El promedio de la calificación dio el siguiente resultado. Aprobado por unanimidad con nota de Quince (15) de acuerdo al reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna.

Siendo las 11:20 horas, se dio por concluido el acto de sustentación de la tesis, firmando los señores miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.



Dra. Soledad Amparo Bornas Acosta  
PRESIDENTA



Dra. Ángela Verónica Choque Miranda  
SECRETARIA



Mgr. Rosa María Liñan Abanto  
VOCAL

## CONSTANCIA DE SIMILITUD

Yo, Víctor Hugo Carbajal Zegarra, en mi condición de Asesor de tesis, declaro que la señorita Bachiller Lesly Adelis Valdivia Quispe (2013-38140), de la Escuela Profesional de Biología - Microbiología de la Facultad de Ciencias, quién sustentó su trabajo de Tesis Profesional: *“Inducción de fibrosis hepática en roedores sinantrópicos como modelo experimental para la investigación – Tacna”* para obtener el título profesional de BIÓLOGO MICROBIÓLOGO. Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajo de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través de Software de similitud textual TURNITIN, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es 9 %, por lo que, CERTIFICO LA SIMILARIDAD del trabajo final de tesis profesional, la cual está expedita para continuar con los trámites para la obtención del título profesional, según corresponda consiguientemente la publicación en el repositorio Institucional.



**ASESOR**

Blgo. Víctor Hugo Carbajal Zegarra

DNI: 04745280



**TESISTA**

Bach. Lesly Adelis Valdivia Quispe

DNI:48138692



## **DEDICATORIA**

A mi madre, Balentina Quispe quien me enseñó a que en la vida todo se obtiene con esfuerzo, dedicación y responsabilidad.

A mi padre, que ya descansa en paz, Pablo Valdivia por dejarme ver que el mundo es pequeño y que puedo cruzarlo.

A mi hermana Yuliana Valdivia por sus ánimos en salir adelante y por todo el apoyo que me ha brindado hasta ahora.

A mi sobrino Benjamín Llana por dejarme ver esa gran sonrisa todos los días.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A toda mi familia, pues sin el apoyo constante e incondicional que me han brindado, no solo durante esta tesis, sino durante toda mi vida, yo no sería quien soy hoy. Gracias por apoyarme en todo momento.

A mi asesor Biol. Victor H. Carbajal Zegarra, por todo lo que me ha enseñado, por guiarme en mi carrera científica y por la confianza que ha depositado en mí a lo largo de estos años. Gracias por todos los consejos.

A mi amigo Lucio, por todo su apoyo y siempre estar presente, animarme y enseñarme que no hay límites a lo que puedas lograr y que todo se puede con esfuerzo y dedicación.

Al Doctor Joel, Alexis y Daysi por todo el apoyo brindado al estudio, por su guía profesional y colaboración; sus experiencias y conocimientos fueron fundamentales para llevar a cabo este trabajo.

Al equipo Bioterio, Nataly y Gisell, gracias por su apoyo, comprensión y sobre todo amistad y haber hecho de mi vida universitaria un trayecto de vivencias que no olvidaré.

“La primera condición del científico que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, el dolor o el sufrimiento a que estos pueden ser sometidos en los trabajos de experimentación bajo su responsabilidad”.

\_\_\_\_\_ (*Mrad de Osorio*)

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	v
ÍNDICE DE TABLAS .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN .....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. CAPÍTULO I .....	13
INTRODUCCIÓN .....	13
1.1. Planteamiento del problema.....	15
1.2. Hipótesis.....	16
1.3. Justificación.....	16
1.4. Objetivos .....	18
1.4.1. Objetivo general.....	18
1.4.2. Objetivos específicos .....	18
2. CAPÍTULO II.....	19
MARCO TEÓRICO.....	19
2.1. El hígado .....	19
2.2. Lóbulos hepáticos de <i>Rattus</i> .....	28
2.3. Fisiopatología del hígado .....	29
2.4. Fibrosis hepática.....	31

2.5.	Papel de los diferentes tipos celulares hepáticos.....	36
2.6.	Thioacetamida (TAA) .....	38
2.7.	Modelos experimentales.....	40
3.	CAPÍTULO III.....	43
3.1.	Materiales .....	43
3.2.	Diseño de la investigación.....	44
3.3.	Variables de estudio .....	44
3.4.	Población y muestra .....	44
3.5.	Métodos.....	45
4.	CAPÍTULO IV.....	48
	RESULTADOS.....	48
5.	CAPÍTULO V .....	75
6.	DISCUSIÓN .....	75
7.	CONCLUSIONES .....	77
8.	RECOMENDACIONES.....	78
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
12.	ANEXOS .....	82

## ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1</i> Datos de los signos vitales – rata albina y moteada.....	48
<i>Tabla 2</i> Datos de los signos vitales – rata negras y pardas.....	49
<i>Tabla 3</i> Datos de los pesos en las ratas inducidas con TAA.....	52
<i>Tabla 4</i> Datos bioquímicos ratas albinas.....	56
<i>Tabla 5</i> Datos bioquímicos ratas moteadas .....	57
<i>Tabla 6</i> Datos bioquímicos en ratas negras.....	58
<i>Tabla 7</i> Datos bioquímicos en ratas pardas.....	59
<i>Tabla 8</i> Datos hematológicos en ratas albinas. ....	62
<i>Tabla 9</i> Datos hematológicos en ratas moteadas.....	63
<i>Tabla 10</i> Datos hematológicos en ratas negras. ....	64
<i>Tabla 11</i> Datos hematológicos en ratas pardas.....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1 Anatomía del hígado .....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 2 Principales vasos sanguíneos en el hígado.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 3 Unidad estructural y funcional del hígado.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 4 Células hepáticas .....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 5 Unidad funcional del hígado.....</i>	<i>23</i>
<i>Figura 6 Células estrelladas (Ito).....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 7 Células de Kuffer.....</i>	<i>27</i>
<i>Figura 8 Hígado de la rata Wistar.....</i>	<i>28</i>
<i>Figura 9 Efecto de TAA sobre los signos vitales y el ritmo cardiaco .....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 10 Efecto de TAA sobre los signos vitales y el ritmo respiratorio.....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 11 Efecto de TAA sobre los signos vitales y el peso.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 12 Efecto de TAA sobre los signos vitales y el peso en las variantes .....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 13 Comparación del efecto tóxico de TAA.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 14 Efecto de la TAA sobre parámetros bioquímicos.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 15 Efecto de TAA sobre parámetros bioquímicos en las variantes.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 16 Efecto de TAA sobre valores hematológicos.....</i>	<i>66</i>
<i>Figura 17 Efecto de TAA sobre parámetros hematológicos en variantes.....</i>	<i>67</i>
<i>Figura 18 Comparación macroscópica del hígado en rata albina.....</i>	<i>68</i>
<i>Figura 19 Comparación macroscópica del hígado en rata moteada .....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 20 Comparación macroscópica del hígado en rata parda.....</i>	<i>69</i>
<i>Figura 21 Comparación macroscópica del hígado en rata negra.....</i>	<i>70</i>
<i>Figura 22 Corte histológicos del hígado sano .....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 23 Corte histológicos del hígado fibrótico (H&amp;E).....</i>	<i>72</i>
<i>Figura 24 Corte histológicos del hígado fibrótico (Masson).....</i>	<i>73</i>

## RESUMEN

El propósito de este estudio fue evaluar y caracterizar un modelo experimental de fibrosis hepática en roedores sinantrópicos mediante la administración de Thioacetamida (TAA), evaluando su toxicidad, impacto hematológico y bioquímico, y comparando las características histológicas con las observadas en roedores tradicionales. Para ello, se diseñó un estudio experimental y comparativo, utilizando dosis crecientes de TAA para determinar la dosis tóxica media (DT50) y evaluar los cambios fisiológicos, hematológicos, bioquímicos e histológicos en ambos grupos de roedores. Para determinar la dosis tóxica media, se inocularon por vía intraperitoneal a los especímenes en estudio: *Rattus rattus* (negra), *Rattus norvegicus* (parda), y a los modelos tradicionales, como la rata albina (Wistar) y la moteada (Long-Evans). Se registraron los efectos adversos de este tratamiento sobre el fenotipo y la homeostasis de los animales tratados, incluyendo las alteraciones en el pelaje, el peso, el ritmo cardiaco, el ritmo respiratorio y la morfología hepática. Los resultados indicaron que el efecto de TAA en la determinación de DT50 en los especímenes varían, siendo las ratas albinas y moteadas más susceptibles al tratamiento con una concentración de 250mg/Kg, las ratas negras con 270mg/Kg y las pardas con 290mg/Kg. En conclusión, los roedores sinantrópicos demostraron ser un modelo experimental complementario a los roedores de tradicionales, ofreciendo una representación más cercana a las condiciones humanas debido a su diversidad genética y ambiental. Comparativamente, los roedores sinantrópicos presentaron una progresión más heterogénea de la fibrosis en relación con los roedores de laboratorio.

Palabras clave: fibrosis hepática, ratas sinantrópicas, thioacetamida, DT50

## ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate and characterize an experimental model of liver fibrosis in synanthropic rodents by administering Thioacetamide (TAA), evaluating its toxicity, hematological and biochemical impact, and comparing the histological characteristics with those observed in traditional rodents. To this end, an experimental and comparative study was designed, using increasing doses of TAA to determine the mean toxic dose (DT50) and evaluate the physiological, hematological, biochemical and histological changes in both groups of rodents. To determine the mean toxic dose, the following specimens were inoculated intraperitoneally: *Rattus rattus* (black), *Rattus norvegicus* (brown), and traditional models, such as the albino rat (Wistar) and the mottled rat (Long-Evans). The adverse effects of this treatment on the phenotype and homeostasis of the treated animals were recorded, including alterations in hair coat, weight, heart rate, respiratory rate and liver morphology. The results indicated that the effect of TAA on the determination of DT50 in the specimens varies, with albino and mottled rats being more susceptible to treatment with a concentration of 250 mg/kg, black rats with 270 mg/kg and brown rats with 290 mg/kg. In conclusion, synanthropic rodents proved to be a complementary experimental model to traditional rodents, offering a closer representation of human conditions due to their genetic and environmental diversity. Comparatively, synanthropic rodents presented a more heterogeneous progression of fibrosis in relation to laboratory rodents.

Keywords: liver fibrosis, synanthropic rats, thioacetamide, DT50

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

Los modelos de daño hepático representan herramientas fundamentales para investigar la histopatología. Es posible inducir experimentalmente tanto lesiones hepáticas agudas como crónicas en diversas especies animales, destacando la rata como el modelo más empleado debido a su tamaño y costo accesible. Gran parte de los datos relacionados con el daño hepático y los factores que influyen en la susceptibilidad, como la edad, el sexo y la dieta, están basados en estudios con ratas. La adopción de un modelo experimental estándar permite una comparación más efectiva de los resultados obtenidos entre diferentes laboratorios (Saldivar, 2019).

La fibrosis hepática se desarrolla como respuesta a diversas causas de daño hepático crónico (Nallagangula et al., 2018). Desde un punto de vista histológico, esta condición surge debido a un desequilibrio entre la síntesis y la degradación de la matriz extracelular, lo que provoca un exceso de depósito de matriz extracelular en el tejido hepático dañado (Lee & Friedman, 2011). Los principales responsables de este depósito son los fibroblastos y las células estrelladas hepáticas activadas, que producen grandes cantidades de colágeno tipo I y  $\alpha$ -SMA ( $\alpha$ -smooth muscle actin), los cuales se acumulan en los septos a medida que avanza la fibrosis. En algunos casos, también se observa la acumulación de colágeno tipo IV en los espacios perisinusoidales (Mederacke et al., 2013).

El inicio de la activación y proliferación de las células estrelladas está relacionado con el aumento de diversas citocinas inflamatorias, como TNF-alfa, IL-1b e IL-6, las cuales son producidas por las *Macrophagocytus stellatus* (células de Kupffer) y los macrófagos residentes.

Estas citocinas desempeñan un papel crucial al regular la expresión de colágeno (Sica & Mantovani, 2014).

Existen múltiples métodos para inducir daño hepático de forma experimental con el propósito de estudiar la fibrosis, cirrosis o hepatitis tóxica. Entre los agentes más utilizados se encuentran la Thioacetamida (TAA) y el Tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>). La TAA resulta particularmente valiosa como modelo para analizar efectos hepatotóxicos, ya que genera daño hepático en diversas especies, incluidas ratas y ratones. La toxicidad causada por TAA está influenciada por la dosis administrada y la duración de la exposición, lo que da lugar a una amplia gama de efectos. Con dosis bajas, se observan alteraciones transitorias como desregulación de la homeostasis del Ca<sup>2+</sup>, peroxidación lipídica, liberación de citocinas y apoptosis. No obstante, dosis más elevadas y exposiciones prolongadas conducen a efectos más severos, incluyendo degeneración grasa, fibrosis, cirrosis e incluso desarrollo de cáncer (Muriel, 2007).

El modelo de fibrosis hepática inducida por TAA es actualmente el más empleado para reproducir la cirrosis en ratas y ratones. Para generar fibrosis experimental, es imprescindible administrar dosis repetidas de TAA, independientemente de la especie animal o la vía de administración utilizada. Es crucial que el intervalo entre dosis no sea demasiado largo para evitar la regeneración del hígado lesionado. La fibrosis comienza a manifestarse tras dos meses de tratamiento, con una progresión de la enfermedad que se intensifica después de tres meses, momento en el cual la mortalidad estimada oscila entre el 20% y el 30%. A los cuatro meses, la mortalidad supera el 80%. Este modelo es ampliamente reconocido por su utilidad para replicar la fibrosis hepática humana en animales experimentales y constituye una herramienta clave para investigar los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad (Muriel, 2007).

La fibrosis hepática es un proceso patológico que ocurre tras una lesión crónica del hígado, donde se forma tejido fibroso y se acumulan proteínas que alteran su estructura. Esto

puede progresar hacia cirrosis o carcinoma hepatocelular, convirtiéndose en una de las principales causas de enfermedad y mortalidad a nivel mundial (Perez & Stoeckle, 2016).

El estudio propone investigar a detalle el proceso y desarrollo de cada una de las etapas de la fibrosis hepática inducida en roedores experimentales sinantrópicos, mediante la desregulación del sistema inmunitario utilizando Thioacetamida (TAA). Además de evaluar los efectos involucrados en la respuesta fibrosa, el estudio también tiene como objetivo determinar la dosis letal tóxica específica para cada modelo animal experimental. De esta manera, se busca una comprensión más profunda de las interacciones entre los diversos elementos que participan en la respuesta fibrosa, lo que podría proporcionar valiosos aportes para futuras investigaciones y tratamientos relacionados con la fibrosis hepática.

### **1.1. Planteamiento del problema**

La fibrosis hepática es una respuesta del hígado frente a un daño crónico, en la que se forma tejido fibroso y se acumulan proteínas de la matriz extracelular, lo que distorsiona su estructura y función. Este proceso no solo afecta la capacidad regenerativa del hígado, sino que puede progresar a condiciones más graves como la cirrosis o el carcinoma hepatocelular, las cuales son responsables de una alta tasa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Perez & Stoeckle, 2016).

Las lesiones hepáticas, tanto agudas como crónicas, pueden ser inducidas de forma experimental e incluyen condiciones como necrosis, esteatosis, lesiones venulares y cirrosis. Para estudiar estos modelos, se pueden emplear diversas especies animales (Lee & Friedman, 2011). Esto permite una mejor comprensión de los efectos de la fibrosis hepática en respuesta a distintas causas de daño hepático crónico (Nallagangula et al., 2018).

Existen varios modelos experimentales para estudiar la fibrosis hepática, la mayoría de estos se basan en especies de roedores convencionales, como las ratas de laboratorio. Sin embargo, la utilización de roedores sinantrópicos (aquellos que viven en proximidad a los

humanos y sus ambientes) como modelo experimental ha sido poco explorada. Dado que estos roedores pueden tener una fisiología y respuesta al daño hepático que difiere de los roedores de laboratorio tradicionales, es crucial investigar su potencial como modelos experimentales para estudiar la fibrosis hepática. Este estudio busca abordar esta brecha en el conocimiento mediante la evaluación de la viabilidad y pertinencia de inducir fibrosis hepática en roedores sinantrópicos, lo que podría ofrecer un enfoque innovador para la investigación en los campos de la hepatología y la toxicología.

Para ahondar en la comprensión sobre los efectos de la fibrosis hepática humana en respuesta a diferentes causas de daño hepático crónico, este estudio se enfocó en replicar el proceso inflamatorio en el hígado de ratas sinantrópicas. Utilizando la inducción con Thioacetamida (TAA), se probó diferentes concentraciones para determinar la dosis tóxica media. El estudio se llevó a cabo bajo un control estricto para evaluar cómo esta sustancia influye en el desarrollo del proceso patogénico de la fibrosis en estos roedores, desde la inducción de la inflamación hasta la respuesta patológica a la lesión hepática provocada por este agente químico.

En este contexto, se formula la siguiente interrogante de investigación: ¿Cuál es la efectividad de la inducción de fibrosis hepática en roedores sinantrópicos como un modelo experimental para investigación en la región de Tacna?

## **1.2. Hipótesis**

Los roedores sinantrópicos pueden desarrollar fibrosis hepática de manera efectiva tras la inducción experimental altamente viable para la investigación en hepatología y toxicología.

## **1.3. Justificación**

La fibrosis hepática es una de las enfermedades más frecuentes a nivel mundial y, con frecuencia, progresa hacia la cirrosis hepática. En muchos países, el trasplante de hígado es el

tratamiento más eficaz; sin embargo, la mayoría de los pacientes no puede acceder a este procedimiento debido a restricciones económicas y a la limitada disponibilidad de donantes, lo que lleva a que algunos fallezcan mientras esperan en la lista de trasplantes (Arteaga, 2018).

La fibrosis hepática se origina debido a un desequilibrio entre la síntesis y la degradación de la matriz extracelular, lo que provoca una acumulación excesiva de esta en el tejido hepático lesionado. Uno de los principales obstáculos en el tratamiento de esta condición es la falta de conocimiento sobre los mecanismos moleculares que generan el daño hepático y contribuyen a su irreversibilidad (Enciso et al., 2020).

La gravedad de esta enfermedad hepática la convierte en un tema de investigación de gran relevancia en hepatología. Los modelos experimentales basados en roedores de laboratorio convencionales, como ratas y ratones, han sido fundamentales para el estudio de esta patología, pero presentan limitaciones relacionadas con su capacidad para replicar fielmente la fisiología humana en condiciones específicas.

Los roedores sinantrópicos, que viven en estrecha proximidad con los humanos, podrían ofrecer un modelo alternativo más representativo debido a su exposición a factores ambientales similares. Investigar la inducción de fibrosis hepática en estos roedores podría ampliar las herramientas de estudio y ofrecer nuevas perspectivas sobre la patogénesis de la fibrosis en un contexto más cercano a la salud humana. Además, este modelo podría ser útil para evaluar la eficacia de nuevas terapias y comprender mejor la progresión de la enfermedad en diferentes contextos ambientales.

## **1.4. Objetivos**

### ***1.4.1. Objetivo general***

Evaluar la efectividad de inducir fibrosis hepática en roedores sinantrópicos como un modelo experimental alternativo para la investigación en hepatología y toxicología.

### ***1.4.2. Objetivos específicos***

- Determinar la dosis tóxica media de TAA en roedores sinantrópicos y el efecto en los signos vitales.
- Caracterizar la respuesta hematológica y bioquímica de los roedores sinantrópicos a la inducción experimental de fibrosis mediante el uso de TAA.
- Comparar las características histológicas del tejido hepático de roedores sinantrópicos con las de roedores de laboratorio convencionales tras la inducción de fibrosis hepática.

## CAPÍTULO II

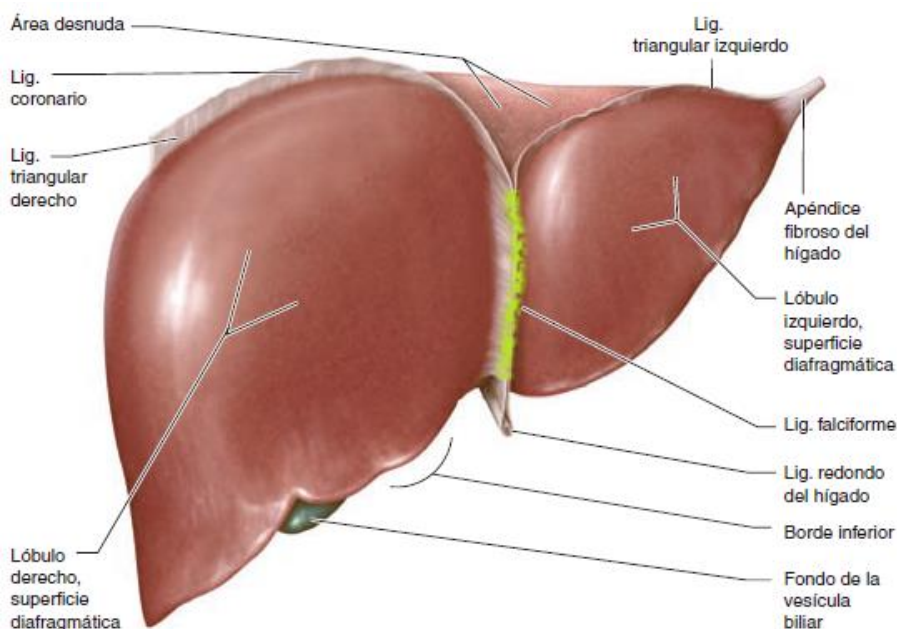
### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. El hígado

El hígado es el órgano más grande del cuerpo humano, con un peso que oscila entre 1 y 1,5 kg, representando aproximadamente el 1,5 al 2,5 % de la masa corporal magra. Está dividido en dos lóbulos principales, derecho e izquierdo, separados por el ligamento falciforme. Estos lóbulos reciben irrigación a través de las ramas derecha e izquierda de la arteria hepática y la vena porta. La bilis es drenada del hígado mediante los conductos hepáticos izquierdo y derecho. Adicionalmente, el lóbulo derecho se subdivide en dos lóbulos más pequeños: el lóbulo cuadrado y el lóbulo caudado, conocido también como "Spiegel" (Muriel, 2007).

**Figura 1**

*Anatomía del hígado*



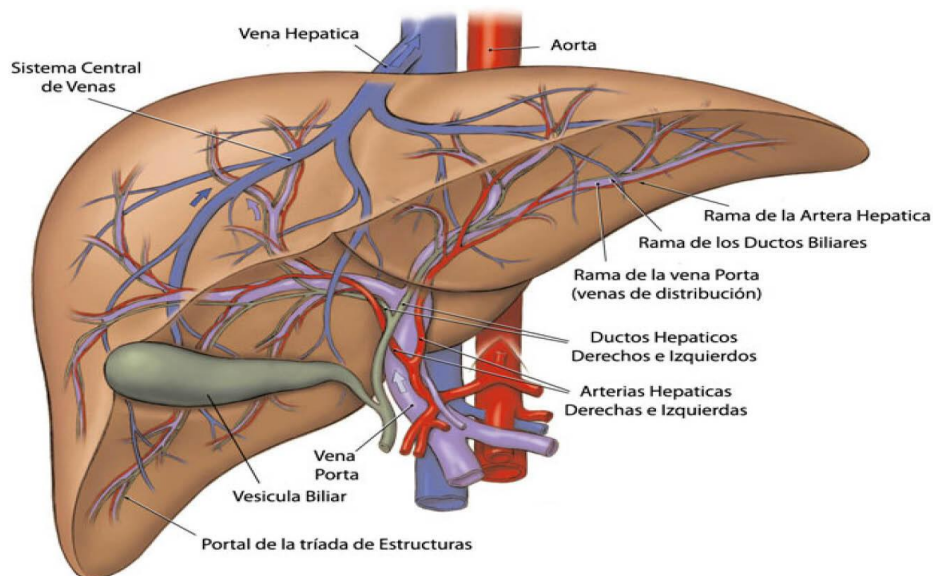
*Nota:* (Sibulesky L, 2013)

El hígado está ubicado en el cuadrante superior derecho del abdomen, justo debajo de la caja torácica derecha, apoyándose sobre el diafragma y extendiéndose parcialmente hacia el

cuadrante superior izquierdo. Su posición se mantiene gracias a las fijaciones ligamentarias que lo conectan con el diafragma, el peritoneo, los grandes vasos y los órganos gastrointestinales superiores. Este órgano recibe un doble suministro de sangre: aproximadamente el 20% proviene de la arteria hepática, que aporta sangre rica en oxígeno, mientras que el 80% restante es suministrado por la vena porta, que transporta sangre rica en nutrientes desde el estómago, el intestino, el páncreas y el bazo. La mayor parte del hígado está formada por hepatocitos, que constituyen alrededor de dos tercios de su masa total. El resto está compuesto por células de Kupffer, células estrelladas, células endoteliales, vasos sanguíneos y células de los conductillos biliares, junto con estructuras de soporte (Kasper, 2005).

## Figura 2

### *Principales vasos sanguíneos en el hígado*



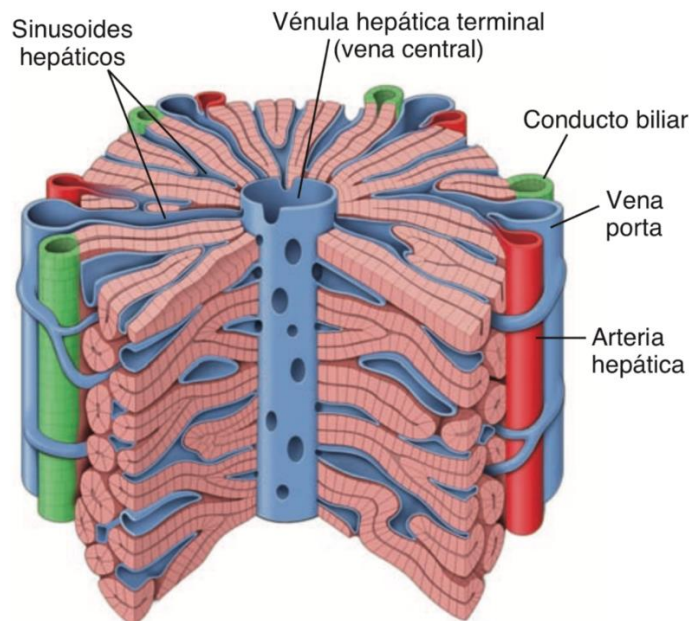
*Nota:* Homo medicus (2024).

El acino representa la unidad estructural y funcional del parénquima hepático, dispuesto en torno al tracto portal y la vena central. Está compuesto por seis conjuntos de tractos portales, cada uno de los cuales incluye una vénula portal, una arteriola hepática y un conducto biliar. La sangre fluye desde las vénulas portales y las arteriolas hepáticas a través de las sinusoides,

que rodean las placas de hepatocitos, hasta llegar a la vena central. Los hepatocitos, que constituyen la mayoría de las células hepáticas, están organizados en placas de una sola célula de espesor, variando en tamaño según su proximidad al tracto portal o la vena central. Además, hay diferencias en la expresión genética y el potencial de crecimiento de los hepatocitos dentro del acino. Tanto los hepatocitos como las células epiteliales del ducto biliar provienen del hepatoblasto, una célula fundadora derivada del divertículo hepático durante el desarrollo embrionario (Lorenti A, 2001).

### **Figura 3**

#### *Unidad estructural y funcional del hígado*



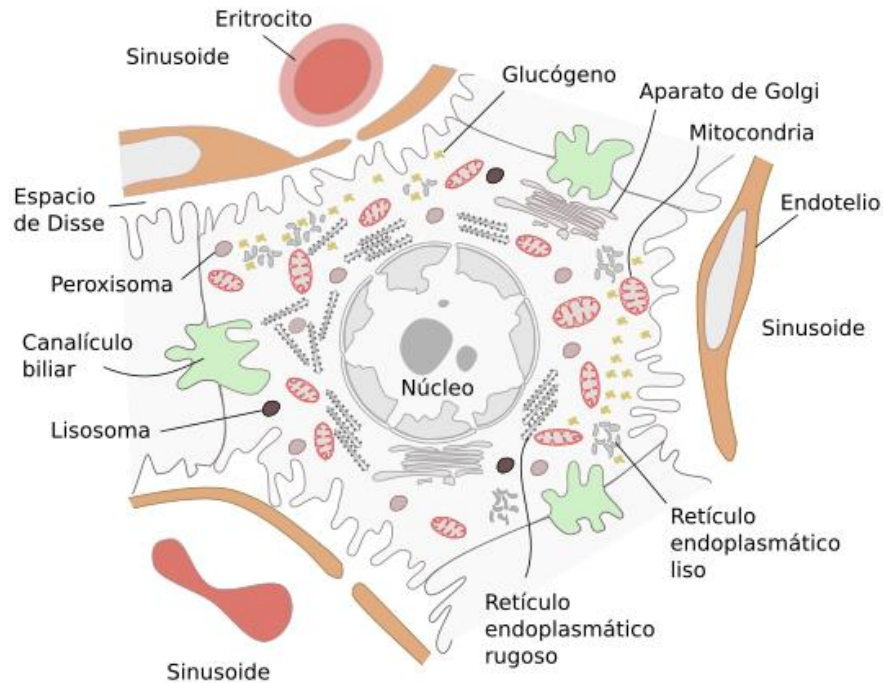
**Nota:** Homo medicus (2024).

El desarrollo del hígado a partir del divertículo depende de la interacción entre las células endodérmicas y el mesodermo circundante, una interacción fundamental para su formación. Los hepatoblastos, células bipotenciales, migran a través del septo transversal y comienzan su diferenciación bajo la influencia de señales provenientes de la mesénquima portal. Los hepatoblastos que no interactúan con la mesénquima se transforman en hepatocitos,

mientras que aquellos que sí establecen contacto con la mesénquima del tracto portal se diferencian en células ductales biliares. (Grisham & Thorgeirsson, 1997).

#### **Figura 4**

##### *Hepatocito*



**Nota:** (Reyes M. A, 2021).

Los hepatocitos ubicados cerca del tracto portal son diploides y poseen el mayor potencial de crecimiento. En la región intermedia, entre el tracto portal y la vena central, los hepatocitos suelen ser tetraploides y presentan una capacidad de crecimiento moderada. Por otro lado, los hepatocitos situados cerca de la vena central pueden ser tetraploides u octaploides, con una capacidad de crecimiento considerablemente menor (Fausto, 2004).

#### **2.1.1. Estructura y función**

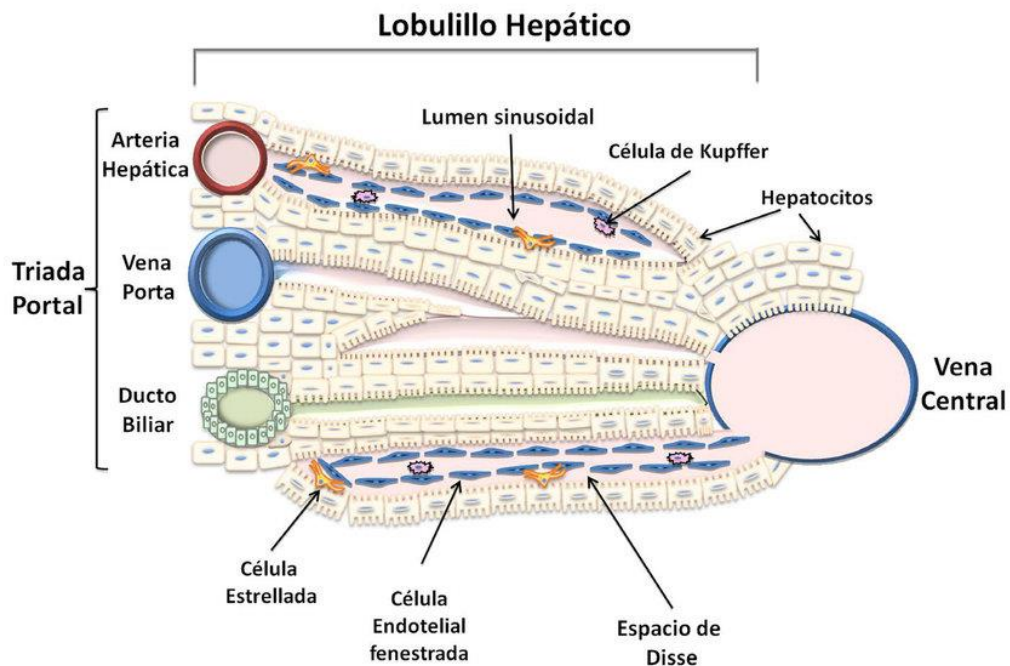
El hígado tiene una función fundamental en el sistema inmunológico, ya que recibe microorganismos y compuestos derivados del microbiota intestinal. También actúa como glándula exocrina al generar bilis, que es secretada en los conductos biliares, y como glándula endocrina al intervenir en la síntesis de hormonas. Además, el hígado produce la mayoría de

las proteínas plasmáticas, incluyendo la albúmina y el fibrinógeno, y almacena glucógeno, hierro y vitaminas (Tutusaus, 2018).

En el plano histológico, la unidad funcional y estructural clásica del hígado es el lobulillo hepático. Presenta su forma hexagonal, compuesta por hepatocitos y capilares sinusoidales dispuestos alrededor de la vena central, y está rodeado por tejido conectivo que forma el espacio portal. Dentro de este espacio se encuentra la tríada portal, compuesta por ramas de la vena porta y la arteria hepática, así como vasos linfáticos y nervios. Esta organización es crucial para la función hepática, ya que permite la circulación de la sangre a través de las sinusoides, desde la vena porta hacia la vena central, para posteriormente integrarse a la circulación sistémica a través de la vena hepática.

### Figura 5

*Unidad funcional del hígado*



*Nota:* (Reyes M. A, 2021)

El lobulillo hepático representa la unidad funcional del hígado. La sangre proveniente de la vena porta fluye hacia la vena central a través de los capilares sinusoidales, facilitando el intercambio de moléculas con los hepatocitos. Entre los hepatocitos y las células endoteliales

se encuentra el espacio de Disse, donde residen las células estrelladas hepáticas (CEH) (Adams et al, 2006).

El parénquima hepático está formado por hepatocitos organizados de manera radial, separados por sinusoides constituidos por células endoteliales fenestradas. En estas sinusoides también se localizan las células de Kupffer, que son los macrófagos residentes del hígado. (Tutusaus, 2018).

### ***2.1.2. Células hepáticas***

Los hepatocitos representan aproximadamente el 80% del volumen total del hígado, mientras que las células no parenquimatosas, aunque menos numerosas, comprenden diversos tipos celulares, entre ellos las células estrelladas, las células endoteliales, los colangiocitos, las células de Kupffer y otras células del sistema inmunológico, como linfocitos y células dendríticas. (Tutusaus, 2018).

Los hepatocitos son células poliédricas con una notable capacidad metabólica. Están involucrados en el metabolismo y almacenamiento de glucosa, contribuyen al mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre, metabolizan lípidos, sintetizan lipoproteínas y colesterol, y almacenan triglicéridos. Asimismo, participan en la eliminación del amonio generado por el metabolismo de aminoácidos y en la producción de proteínas plasmáticas y componentes de la bilis.

Los hepatocitos son células polarizadas que cuentan con receptores y transportadores específicos en cada uno de sus polos. El polo sinusoidal, con microvellosidades orientadas hacia el espacio de Disse, facilita el intercambio de moléculas con la sangre. Por otro lado, el polo canalicular, en contacto con el canalículo biliar, posee una membrana especializada en la excreción de bilis. Además, dentro del lobulillo hepático existe una heterogeneidad metabólica influenciada por el gradiente de oxígeno y nutrientes. Los hepatocitos periportales, que

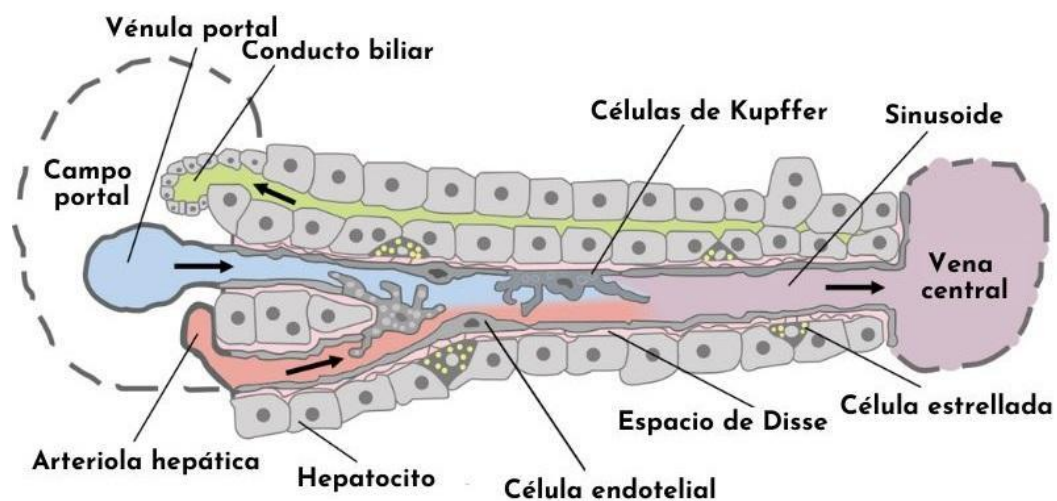
disponen de mayor cantidad de oxígeno, se especializan en procesos gluconeogénicos, mientras que los hepatocitos perivenosos favorecen las actividades glicolíticas. (Tutusaus, 2018).

### 2.1.3. Células estrelladas

Las células estrelladas hepáticas (HSC) son células mesenquimales que representan aproximadamente el 15% del total de células del hígado en condiciones normales. Se encuentran en el espacio de Disse y presentan prolongaciones que se extienden hacia los hepatocitos y las células sinusoidales, lo que les confiere su característica forma estrellada, descrita por primera vez en 1876 por Karl Kupffer.

**Figura 6**

*Células estrelladas o de Ito*



*Nota:* (Frevert et al., 2023).

En condiciones normales, las células hepáticas estrelladas (HSC) se encargan principalmente de almacenar vitamina A en forma de gotas lipídicas. Sin embargo, en años recientes se ha profundizado en el estudio de su función en los procesos de fibrosis hepática. Debido a su ubicación en el espacio de Disse, las HSC interactúan con otras células hepáticas a través de mediadores solubles y citoquinas. Cuando hay daño hepático o inflamación, estas células se activan, convirtiéndose en miofibroblastos con capacidades proliferativas, migratorias y contráctiles. A lo largo de este proceso, las células pierden vitamina A y elevan

la producción de proteínas relacionadas con la remodelación de la matriz extracelular (MEC), lo que, junto con la amplificación de señales inflamatorias, contribuye al desarrollo de fibrosis hepática (Tutusaus, 2018).

#### ***2.1.4. Células de Kupffer***

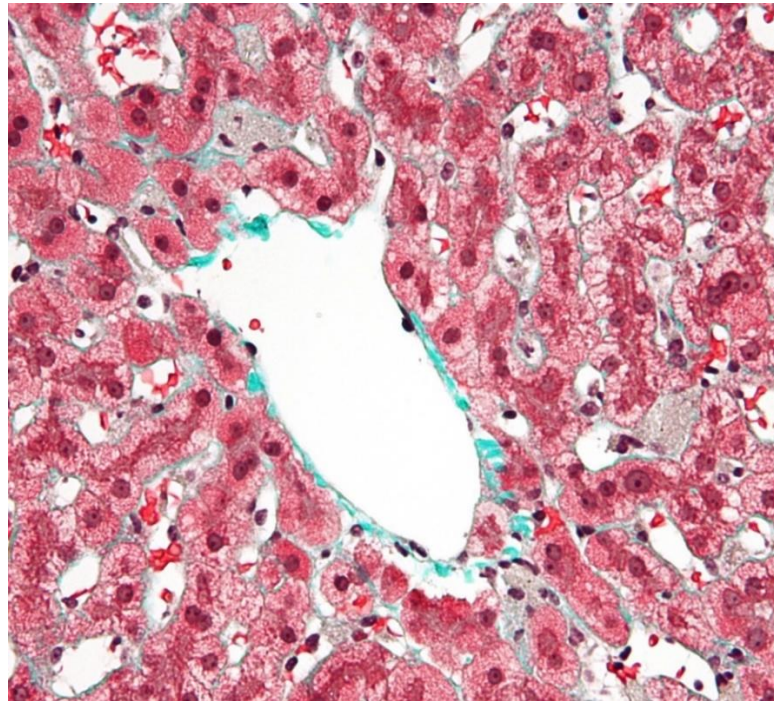
Las células de Kupffer son macrófagos localizados en el hígado y representan la población más abundante de macrófagos residentes en el cuerpo humano. Estudios recientes indican que estas células se desarrollan en el hígado fetal a partir de progenitores eritromieloides, descartando un origen hematopoyético. Asimismo, tienen la capacidad de proliferar y conservar su población sin la necesidad de infiltración de monocitos en el tejido.

Las células de Kupffer, localizadas en el lumen de los sinusoides y adheridas a las células endoteliales, desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmunitaria del hígado y se encuentran en mayor cantidad en las zonas periportales. Estas células poseen prolongaciones citoplasmáticas que amplían su superficie de interacción con otros tipos celulares. En condiciones de homeostasis, participan en el metabolismo del hierro, la bilirrubina y las lipoproteínas, además de tener la capacidad de fagocitar eritrocitos dañados o células apoptóticas.

La función principal de las células de Kupffer es eliminar endotoxinas y patógenos de la sangre, desencadenando respuestas inflamatorias mediante la producción de citocinas y otros mediadores. Este proceso es esencial para la defensa del organismo, pero debe estar estrictamente regulado para evitar una inflamación excesiva que pueda dañar el hígado. Además, estas células desempeñan un papel crucial en la patogénesis de diversas enfermedades hepáticas y metabólicas, como las asociadas al consumo de alcohol o la obesidad, debido a su capacidad de generar respuestas inflamatorias frente a distintos estímulos (Tutusaus, 2018).

## Figura 7

### *Células de Kuffer*



*Nota:* (Haubrich W. S, 2004)

#### **2.1.5. Células endoteliales sinusoidales**

Las células endoteliales sinusoidales hepáticas (LSEC) representan aproximadamente el 20% de las células del hígado y están altamente especializadas. Poseen fenestraciones de entre 50 y 150 nm, lo que las convierte en un tipo de capilar discontinuo y altamente permeable. Esta característica permite el intercambio eficiente de sustancias, como lipoproteínas, proteínas plasmáticas y metabolitos, entre los hepatocitos y la sangre a través del espacio de Disse. A diferencia de otras células endoteliales, las LSEC cuentan con receptores de membrana tipo scavenger, así como receptores de manosa e inmunoglobulinas, lo que les otorga capacidad endocítica para eliminar macromoléculas solubles y partículas pequeñas, desempeñando un papel clave en la inmunidad.

Por consiguiente, las sinusoides formadas por estas células son fundamentales para el adecuado funcionamiento del hígado. En condiciones patológicas, la disfunción del endotelio

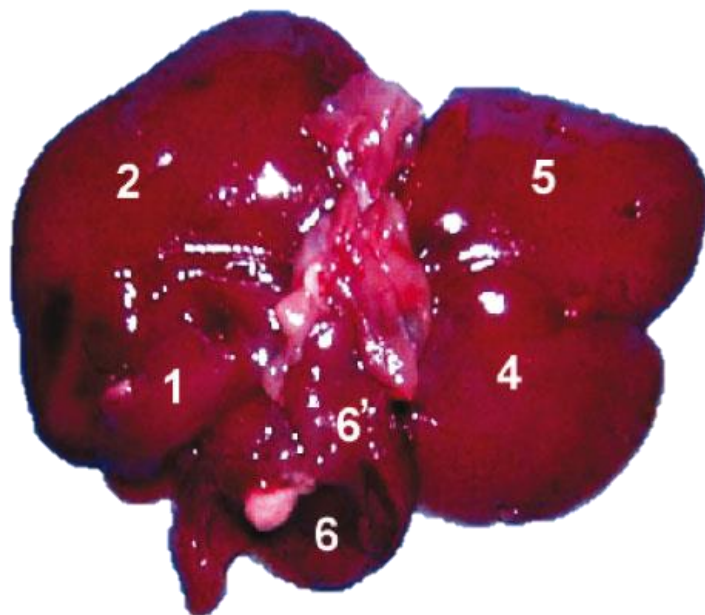
sinusoidal conduce a la pérdida de sus fenestraciones, lo que interfiere con el intercambio de sustancias entre la sangre y los hepatocitos. Asimismo, la activación de las HSC genera vasoconstricción en las sinusoides, provocando un aumento de la presión sanguínea en el hígado. (Tutusaus, 2018)

## 2.2. Lóbulos hepáticos de *Rattus*

La rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*) ha sido utilizada durante años como modelo en investigaciones médicas, biológicas y en diversos campos de estudio. Es interesante el hecho de explorar y adentrarse en la anatomía de los mamíferos pequeños como son las ratas y ratones, para tener una mejor comprensión y hallar una descripción detallada en su fisiología, metabolismo y morfológico (Gershbein & Elias, 1954).

### Figura 8

*Hígado de la rata wistar*



**Nota:** Estructura anatómica del hígado de la rata (Möller B & Vazquez O, 2011)

El hígado se encuentra ubicado en la cara caudal del diafragma, extendiéndose a ambos lados del plano medio, desde el arco costal derecho hasta el izquierdo. Para su análisis, se identificaron dos caras: la parietal (craneal), convexa y en contacto con el músculo diafragma, y la visceral (caudal), cóncava y relacionada con el estómago y la porción craneal del duodeno. Se observó que estaba dividido en los lóbulos derecho (lateral y medial), izquierdo (lateral y medial), cuadrado (muy pequeño) y caudado, el cual incluía los procesos caudado y papilar (este último subdividido en porciones dorsal y ventral). El proceso caudado estaba en contacto con el riñón derecho, mientras que el proceso papilar se superponía a la curvatura menor del estómago. No se observó la presencia de vesícula biliar. (Möller & Vazquez, 2011).

### **2.3. Fisiopatología del hígado**

El hígado normal está formado principalmente por hepatocitos, acompañados por una capa de células endoteliales que recubren los sinusoides, macrófagos denominados células de Kupffer y células perisinusoidales, también conocidas como lipocitos o células estrelladas. Los lipocitos, que constituyen entre el 5% y el 8% de las células hepáticas, almacenan vitamina A y desempeñan un papel crucial en el desarrollo de la fibrosis hepática al activarse y transformarse en células similares a los miofibroblastos. En condiciones normales, la matriz extracelular proporciona soporte y facilita el transporte de sustancias; sin embargo, cuando el hígado sufre daño, su composición se ve alterada, lo que afecta procesos esenciales como la síntesis de albúmina, la desintoxicación de fármacos y la producción de factores de coagulación. Se han identificado diferentes fases en la activación de las células estrelladas durante este proceso (Mendez et al., 2007).

La etapa preinflamatoria, o de reposo, implica cambios en la expresión génica y fenotípica que incrementan la sensibilidad de las células a las citocinas y otros estímulos locales. En la etapa de perpetuación, las células del endotelio sinusoidal, las células de Kupffer,

los hepatocitos, las plaquetas y los leucocitos participan en una estimulación autocrina y paracrina, lo que genera una rápida remodelación de la matriz extracelular y potencia el fenotipo activado mediante la expresión de factores de crecimiento. Finalmente, durante la resolución de la activación de las células estrelladas, estas desempeñan un papel clave en la síntesis y depósito de colágeno, siendo intensamente activadas y sensibilizadas por diversos factores y células, contribuyendo al desarrollo de la cirrosis hepática. (Mendez et al., 2007).

Las células endoteliales desempeñan un papel importante al producir fibronectina y activar el TGF- $\beta$ . Por su parte, las células de Kupffer favorecen la síntesis de la matriz extracelular, la proliferación celular y la liberación de retinoides de las células estrelladas. También secretan MMP-9 para activar el TGF- $\beta$  y generan radicales libres de oxígeno que potencian la activación de las células estrelladas, mientras que el óxido nítrico que producen contribuye a contrarrestar estos radicales. Los neutrófilos tienen una participación destacada en la generación de radicales libres de oxígeno, que estimulan directamente la síntesis de colágeno. Además, los linfocitos T CD4 liberan citocinas como IL-4, IL-5, IL-6 e IL-13, que promueven la fibrogénesis.

El estrés oxidativo desempeña un papel clave como desencadenante de la fibrosis hepática. En pacientes con daño hepático causado por el consumo de alcohol, la saturación de la enzima alcohol deshidrogenasa activa las enzimas del citocromo P-450 (como CYP2E1 o CYP4A), lo que genera radicales libres de oxígeno. La infiltración de leucocitos es un factor determinante en el desarrollo de la fibrosis, ya que el riesgo aumenta en proporción a la gravedad de la inflamación y al incremento de las transaminasas. Además, el TNF- $\alpha$  contribuye al proceso fibrogénico al estimular las células estrelladas de manera paracrina (Mendez et al., 2007).

El receptor activado por proliferadores de peroxisomas (PPAR- $\alpha$ ) estimula la enzima CYP4A, favoreciendo el estrés oxidativo. La ausencia de PPAR- $\alpha$  en modelos experimentales

está asociada con la oxidación de ácidos grasos y el desarrollo de esteatohepatitis. La activación de las células estrelladas, por otro lado, está relacionada con una reducción en los niveles de PPAR- $\gamma$ , pero no de PPAR- $\alpha$ . Se ha planteado que los ligandos de PPAR- $\gamma$ , como las tiazolidinedionas, podrían inhibir la activación de estas células. La leptina, que es producida por las células estrelladas y cuya concentración aumenta con el incremento de la masa adiposa, también desempeña un papel en la inducción de fibrosis hepática en pacientes con esteatosis. Además, el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) actúa como un estímulo potente para la proliferación de las células estrelladas, observándose un aumento tanto en el PDGF como en su receptor tras un daño hepático.

La metaloproteinasa 1 de la matriz es una enzima responsable de descomponer el colágeno tipo I, que es el principal componente del hígado fibroso; sin embargo, las células estrelladas producen inhibidores de metaloproteinasas (TIMP-1 y TIMP-2), lo que contribuye al aumento de la fibrosis y al desarrollo de cirrosis. La incapacidad para degradar la matriz cicatricial favorece la progresión de la cirrosis. Durante la recuperación del daño hepático agudo, la cantidad de células estrelladas disminuye debido a su desactivación o apoptosis. Por lo tanto, la formación de cirrosis no está necesariamente asociada con la necrosis de los hepatocitos ni con la presencia de virus hepatotropos (Mendez et al., 2007).

## **2.4. Fibrosis hepática**

### ***2.4.1. Principios básicos de la fibrogénesis hepática***

La fibrogénesis hepática es un proceso complejo de reparación del tejido hepático en respuesta a un daño hepatocelular persistente, en el que participan activamente diversos tipos celulares y citoquinas profibrogénicas.

Uno de los mayores avances en el entendimiento de la patogénesis de la fibrogénesis hepática ha sido identificar a las células estrelladas hepáticas (HSC) como el principal tipo

celular responsable de la producción excesiva de colágeno en el hígado afectado por fibrosis. Estas células se localizan en el espacio de Disse, entre los hepatocitos y las células endoteliales, y representan aproximadamente un tercio de la población no parenquimatosa, que equivale al 15% del total de células en un hígado sano.

En condiciones normales, las células estrelladas hepáticas (HSC) se encargan principalmente de almacenar vitamina A; no obstante, en enfermedades hepáticas crónicas, estas células sufren una transformación fenotípica, adquiriendo características de miofibroblastos, como contractilidad celular y producción de citoquinas proinflamatorias. Aunque las células estrelladas hepáticas (HSC) desempeñan un papel fundamental en la fibrogénesis hepática, otros tipos celulares también pueden diferenciarse en miofibroblastos, como los fibroblastos portales, los fibrocitos circulantes, las células derivadas de la médula ósea y aquellas que experimentan una transición epitelio-mesenquimal. La contribución de estos diferentes tipos celulares varía según la etiología de la fibrogénesis

Durante la fibrogénesis hepática, se produce una interacción compleja entre los distintos tipos de células del hígado. Los hepatocitos dañados liberan especies reactivas de oxígeno (ROS) y otros mediadores que atraen células inflamatorias, como linfocitos y células polimorfonucleares, las cuales activan a las células estrelladas hepáticas (HSC). Una vez activadas, las HSC secretan quimiocinas y moléculas de adhesión, promoviendo la activación de linfocitos y perpetuando un ciclo vicioso. Por su parte, las células de Kupffer, los macrófagos hepáticos, liberan citoquinas y ROS, contribuyendo al proceso fibrogénico. La respuesta inmunitaria frente al daño hepático desempeña un papel central en la modulación de la fibrogénesis. Por ejemplo, las células NK limitan la fibrogénesis al inducir apoptosis en las HSC mediante la liberación de interferón- $\gamma$ . Además, el tipo de linfocitos que infiltra el parénquima hepático influye en la respuesta fibrogénica, y los desequilibrios en las proporciones de células Th1/Th2 y Treg/Th17 pueden favorecer el desarrollo de la fibrosis.

#### ***2.4.2. Mecanismos de activación de las células hepáticas estrelladas.***

Las células estrelladas hepáticas (HSC) se activan en respuesta a citocinas y factores de crecimiento, desencadenando diversos mecanismos relacionados con la proliferación, contracción, síntesis y degradación de proteínas de la matriz extracelular (MEC), así como con la producción de señales inflamatorias.

La activación de las células estrelladas hepáticas (HSC) es estimulada por diversos factores, como los factores de crecimiento TGF- $\beta$  y PDGF, sustancias vasoactivas como la trombina, la angiotensina II y la endotelina-1, citocinas como MCP-1 e interleucina-8, y adipocinas como la leptina. En contraste, citocinas como IFN- $\alpha$  e IGF, junto con sustancias vasodilatadoras como el óxido nítrico y la relaxina, inhiben esta activación. Tanto la activación como la proliferación de las HSC están reguladas por mecanismos moleculares que implican vías de señalización intracelular (como MAP quinasas y PPAR- $\gamma$ ), transporte iónico (a través de canales de calcio e intercambiadores de sodio/potasio) y estrés oxidativo inducido por radicales libres.

El TGF $\beta$  es el principal mediador implicado en la fibrogénesis humana. En su forma activa, se une a los receptores de membrana de las células estrelladas hepáticas (HSC), activando una serie de cascadas intracelulares. Una de las vías clave es la activación del sistema de proteínas SMAD, que actúan como segundos mensajeros y promueven la expresión de genes relacionados con las proteínas de la matriz extracelular (MEC), en particular los genes responsables de la síntesis de procolágeno I y III. En los hígados de pacientes con enfermedades hepáticas crónicas, la expresión génica de TGF $\beta$  se correlaciona directamente con el grado de fibrosis, y estudios experimentales han demostrado que su inhibición puede prevenir el desarrollo de fibrosis hepática.

En el hígado fibrótico, las células estrelladas hepáticas (HSC) activadas producen grandes cantidades de inhibidores tisulares de las colagenasas (TIMP), los cuales regulan la

actividad de estas enzimas encargadas de degradar las fibras de colágeno. Durante el proceso de fibrogénesis hepática, la expresión de TIMP aumenta significativamente, lo que bloquea la acción de las colagenasas. Dado que estas enzimas son esenciales para la degradación del colágeno, su inhibición contribuye a la acumulación de colágeno en el hígado durante la fibrogénesis. Además, los cambios en la composición de la matriz extracelular (MEC) promueven aún más la activación de las HSC.

#### ***2.4.3. La fibrogénesis en los diferentes tipos de hepatopatías***

La patogénesis de la fibrogénesis varía según el agente etiológico implicado. En enfermedades hepáticas de origen viral, como las provocadas por el VHC o el VHB, se produce una acumulación de colágeno predominantemente en la región periportal. La infección de los hepatocitos por estos virus induce estrés oxidativo y desencadena la infiltración de linfocitos, lo que favorece el depósito de colágeno. Esto genera una mayor necrosis de los hepatocitos y una respuesta inflamatoria caracterizada por una infiltración significativa de linfocitos. Además, ciertas proteínas de los virus hepatotropos pueden activar directamente la inflamación y estimular el depósito de colágeno por las células estrelladas hepáticas (HSC).

En la enfermedad hepática alcohólica, se observa una infiltración de células polimorfonucleares y una acumulación de colágeno alrededor de las sinusoides y las venas centrolobulillares. El acetaldehído, que es el principal metabolito del alcohol, genera estrés oxidativo en los hepatocitos y estimula a las células de Kupffer a liberar citocinas proinflamatorias, lo que activa a las células estrelladas hepáticas (HSC) y favorece el desarrollo de la fibrogénesis.

En la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), la hiperglucemia y la resistencia a la insulina aumentan los niveles de ácidos grasos, lo que da lugar a la acumulación de grasa en el hígado o esteatosis hepática. El estrés oxidativo, junto con la liberación de citocinas

proinflamatorias, promueve la apoptosis de los hepatocitos y el reclutamiento de células inflamatorias, lo que contribuye al desarrollo de fibrosis hepática.

En las colestasis crónicas, la acumulación de ácidos biliares en el hígado desencadena una intensa respuesta inflamatoria, estimula la generación de radicales libres y provoca la apoptosis de los hepatocitos. Asimismo, las células biliares liberan mediadores fibrogénicos que activan a los miofibroblastos portales, promoviendo el depósito de colágeno.

La progresión de la fibrosis hepática está determinada por una combinación de factores ambientales y genéticos. Investigaciones epidemiológicas en genética han identificado variantes genéticas que influyen en la predisposición individual a desarrollar fibrosis avanzada. Un ejemplo destacado es la variante con 7 polimorfismos en el gen PNPLA3, asociada a la susceptibilidad en pacientes con HGNA. Estos factores genéticos interactúan con elementos ambientales como la obesidad, el consumo de alcohol y el tabaquismo, modulando tanto la respuesta al daño hepático como la severidad de la fibrogénesis.

#### ***2.4.4. Procesos que conducen a la aparición de la fibrosis hepática***

El consumo prolongado de etanol genera acetaldehído, un metabolito tóxico y altamente reactivo producto de la oxidación del alcohol. Los efectos dañinos del alcohol en el hígado incluyen la esteatosis (acumulación de grasa en el hígado), la esteatohepatitis (inflamación del tejido hepático graso) y la cirrosis (Lefkowitz, 2007).

Según el informe de la Organización Mundial de la Salud titulado "*Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*", el virus de la Hepatitis B es responsable de más de 749,000 casos anuales de cáncer de hígado. Este virus afecta a más de 170 millones de personas en todo el mundo y causa aproximadamente 692,000 muertes al año, principalmente debido al desarrollo de carcinoma hepatocelular (Walayat et al., 2017).

## **2.5. Papel de los diferentes tipos celulares hepáticos**

La activación de las células estrelladas hepáticas (HSC) puede ser provocada por la interacción entre diferentes tipos de células hepáticas, como los macrófagos activados (células de Kupffer), los hepatocitos dañados, las plaquetas y las células endoteliales. Esta interacción da lugar a la producción y liberación de diversas citocinas y radicales libres de oxígeno, que trabajan en conjunto para estimular y activar a las HSC (Sibulesky, 2013).

Las células de Kupffer son macrófagos cuya función principal consiste en eliminar y desintoxicar agentes tanto exógenos como endógenos. En respuesta a un estímulo dañino, estas células desencadenan la activación de las HSC, promoviendo su activación y estimulando su proliferación (Friedman, 2003).

Las células estrelladas hepáticas (HSC) y los hepatocitos están situados en estrecha proximidad, lo que facilita un contacto constante, tanto de forma directa a través de sus membranas celulares como mediante mediadores solubles que pueden inducir la activación de las HSC (Zhao et al., 2016). La exposición de los hepatocitos a agentes citotóxicos, como el acetaldehído, también puede estimular la producción de colágeno tipo I. Asimismo, la apoptosis y la eliminación parcial de hepatocitos son procesos que contribuyen a la activación de las HSC (Friedman, 2003).

### ***2.5.1. Componentes de la matriz extracelular hepática***

En un hígado sano, la matriz extracelular está compuesta por diversas macromoléculas, incluyendo varios tipos de colágeno (I, III, IV, V y VI), glicoproteínas como laminina y fibronectina, y proteoglicanos. La sinusoide hepática se caracteriza por una matriz densa compuesta principalmente de laminina y colágeno tipo IV; sin embargo, con el desarrollo de la fibrosis, esta matriz se transforma en una capa predominantemente rica en colágeno tipo I y III. La acumulación de esta matriz extracelular fibrilar está asociada con la capilarización de

las sinusoides, la pérdida del endotelio sinusoidal y cambios estructurales en los hepatocitos, que pierden sus microvellosidades (Friedman, 2003).

Diversas investigaciones han revelado que, en un hígado fibrótico, los niveles de colágeno y glicosaminoglicanos pueden aumentar entre 4 y 7 veces en comparación con un hígado sano. Este incremento es particularmente notable en el colágeno tipo I, la laminina y los proteoglicanos. La acumulación excesiva de esta matriz extracelular está asociada con el deterioro de la función hepática y una mayor susceptibilidad al desarrollo de carcinoma hepatocelular, aunque los mecanismos que regulan la transformación neoplásica en el contexto de la fibrosis hepática aún no se comprenden por completo. Estos cambios profundos en la arquitectura anatómica del hígado conducen a complicaciones típicas de la enfermedad, como la hipertensión portal, que constituye una de las principales causas de mortalidad en los pacientes afectados (Iredale et al., 1998).

### ***2.5.2. Fuentes productoras de matriz extracelular hepáticas***

Los miofibroblastos hepáticos se han identificado, en su mayoría, como la forma activada de las células estrelladas hepáticas, siendo responsables principalmente de la producción de colágeno fibrilar y elastina (Mark et al., 2010).

Las células estrelladas hepáticas, de origen mesenquimal, se localizan en el espacio de Disse. Estas células contienen abundante vitamina A almacenada como ésteres de retinol en gotas citoplasmáticas. En condiciones normales, producen colágeno tipo IV, laminina y proteoglicanos de sulfato y heparina; no obstante, ante un daño hepático, se activan y proliferan, adoptando un fenotipo similar al de los miofibroblastos, lo que les permite secretar colágenos fibrilares, como el colágeno tipo I y III, además de elastina (Mark et al., 2010).

### ***2.5.3. Degradación de la matriz extracelular durante la fibrosis hepática***

La matriz extracelular puede ser degradada por un grupo de enzimas llamadas metaloproteinasas (MMPs). Estas enzimas son endopeptidasas que dependen de zinc y calcio

para su actividad y son producidas por células del tejido conectivo y células inflamatorias. Las MMPs tienen una alta capacidad para degradar los principales componentes de la matriz extracelular, incluidas proteínas fibrilares, no fibrilares y elastina. Su expresión ha sido identificada en diferentes tipos de células hepáticas, como los hepatocitos, células estrelladas hepáticas (HSC), células de Kupffer (KC), neutrófilos y macrófagos infiltrados en el hígado (Iredale et al., 1998).

La actividad extracelular de las MMP es regulada por proteasas, cuyo control ocurre, en mayor o menor medida, a nivel génico. Este proceso estimula la producción de factores de crecimiento y citoquinas, como el factor de necrosis tumoral (TNF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y la interleucina 1 (IL-1). Las citoquinas profibrogénicas, como el TGF $\beta$ 1 (factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1), pueden alterar la expresión de las MMP al reducir la producción de colagenasas. Por último, la actividad de las MMP es inhibida por los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP), un grupo de proteínas solubles que se unen de manera no covalente a las MMP activas, bloqueando su acción enzimática (Iredale et al., 1998).

## **2.6. Thioacetamida (TAA)**

El ácido tioacetimídico/acetotioamida ( $\text{CH}_3\text{CSNH}_2$ ) es un compuesto sulfuroso.

### ***2.6.1. Utilización de tioacetamida***

La tioacetamida se usa ampliamente para reemplazar el hidrógeno sulfuro en hospitales e industria. También se utiliza para inducir daño hepático (necrosis/apoptosis hepática) fibrosis hepática, cirrosis, carcinoma hepatocelular. También se sabe que tiene efectos sobre el sistema cardiovascular, sistema urinario y sistema nervioso (Tutusaus A. L, 2018).

Aunque la tioacetamida (TAA) se utiliza comúnmente para inducir daño hepático, también se ha reportado que provoca efectos perjudiciales en los testículos (Rahman et al., 2005; Kang et al., 2006). En estudios con ratas cirróticas inducidas por TAA, se ha observado una disminución en las actividades de las enzimas antioxidantes en los testículos. Por otro lado, la melatonina (Mel) es una hormona conocida por su papel en la regulación del ritmo circadiano. Además, tiene funciones importantes en la regulación del equilibrio redox bajo condiciones de estrés y cuenta con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas en el sistema biológico.

### ***2.6.2. Inducción de tioacetamida***

La fibrosis hepática se indujo en ratas mediante la administración intraperitoneal (ip) de tioacetamida (TAA) a una dosis de 220 mg/kg durante un periodo de 24 semanas, con una dosis semanal aplicada a los grupos G-II y G-III. En cambio, el grupo control (G-I) recibió únicamente suero fisiológico. Siete días después de la última administración de TAA, los animales fueron sometidos a eutanasia, utilizando como pretratamiento una combinación de xilacina/ketamina (10 mg/kg), seguida de saturación con cloroformo (Enciso et al., 2020).

La tioacetamida (TAA) se administró por vía intraperitoneal (IP) tres veces por semana, a una dosis de 200 mg/kg disuelta en agua destilada. El grupo 2 sirvió como grupo control de cirrosis, donde las ratas cirróticas recibieron inyecciones IP de TAA con la misma frecuencia y dosis (200 mg/kg en agua destilada) junto con la administración oral diaria de Tween 20 al 10% (5 ml/kg). El grupo 3 correspondió al grupo tratado con silimarina, en el que las ratas cirróticas recibieron silimarina de forma oral a una dosis diaria de 50 mg/kg. La silimarina (Laboratorio Internacional, EE. UU.), un fármaco estándar, se preparó disolviéndola en Tween 20 al 10%. Los grupos 4 y 5 representaron los grupos de tratamiento, en los cuales las ratas cirróticas fueron tratadas con extracto de BR administrado oralmente a dosis diarias de 250 mg/kg y 500 mg/kg, respectivamente (Salama et al., 2012).

Este estudio se centró en evaluar el posible efecto protector del resveratrol frente a la lesión hepática inducida por tioacetamida (TAA), a través de la inhibición de mTOR en el hígado. Las ratas del grupo modelo recibieron inyecciones de TAA (200 mg/kg, dos veces por semana durante 8 semanas) y fueron sacrificadas en la semana 10. Por su parte, el grupo con tratamiento protector fue pretratado con resveratrol (20 mg/kg) administrado diariamente durante dos semanas antes de las inyecciones de TAA y continuó recibiendo ambos agentes hasta la finalización del experimento. Los tejidos hepáticos recolectados fueron analizados mediante microscopía óptica y homogeneizados hepáticos (Dallak et al., 2020).

Inducción de daño hepático crónico en ratas mediante TAA. Este estudio se centró en caracterizar un modelo de rata con lesión hepática crónica inducida por el agente hepatotóxico TAA. La inyección de TAA (200 mg/kg de peso corporal, i.p.) en el grupo modelo de ratas, administrada dos veces por semana durante 8 semanas, provocó un aumento significativo en los biomarcadores de daño hepático y alteraciones en la arquitectura del tejido hepático (Dallak et al., 2020).

## **2.7. Modelos experimentales**

### ***2.7.1. Roedores sinantrópicos***

Los roedores representan el orden de mamíferos más abundante en el reino animal, abarcando alrededor del 43% de las especies conocidas. Además, son los más ampliamente distribuidos, ya que se encuentran en casi todos los continentes e islas, excepto en la Antártida. Este orden incluye aproximadamente 2,000 especies con una gran variedad de tamaños, formas y comportamientos, aunque la mayoría son de cuerpo compacto, relativamente pequeños y con extremidades cortas. De todas estas especies, solo el 5% se considera plaga o fauna nociva en distintas partes del mundo (Huchon et al., 2002).

El término "roedor" tiene su origen en el vocablo latino "rodere", el cual hace referencia a la capacidad característica de estos animales de poseer un par de incisivos en forma de cincel con raíces abiertas. Estos dientes están adaptados para roer casi cualquier tipo de material y alimento, incluyendo insectos con exoesqueleto (Mac, 2011).

### **2.7.2. Rata parda**

La rata parda (*Rattus norvegicus*) es más grande que la rata negra (*Rattus rattus*), con un hocico redondeado, ojos más pequeños y orejas que no alcanzan el borde del ojo al ser estiradas. En ejemplares silvestres de Cataluña, las medidas corporales son: cuerpo de 172-262 mm, cola de 149-222 mm, pata de 37-46 mm, oreja de 16-22 mm y peso de 180-415 g. Las ratas urbanas suelen ser más grandes, y las hembras, ligeramente más pequeñas que los machos. Los juveniles tienen un pelaje gris oscuro uniforme, mientras que los adultos presentan un dorso gris pardusco y un vientre de tonalidad amarillenta o gris sucia. Se distingue fácilmente de *R. rattus* por su coloración y porque su cola es más corta que el cuerpo. Las hembras tienen seis pares de mamas (tres pectorales y tres inguinales). Su cráneo es robusto y más estrecho que el de *R. rattus*, con crestas poco marcadas que le dan un aspecto rectangular, y su mandíbula presenta una hendidura ovalada en la parte posterior. (Palomo et al., 2007).

### **2.7.3. Rata negra**

La rata negra (*Rattus rattus*) es un múrido de cuerpo alargado, hocico puntiagudo y orejas largas que alcanzan el borde del ojo al estirarse hacia adelante. En ejemplares adultos del sur de la península, las medidas corporales son: cuerpo de 158-232 mm, cola de 181-247 mm, pata de 31-39.5 mm, oreja de 20-26.5 mm y peso de 87-278 g. Las hembras son ligeramente más pequeñas que los machos. Los adultos presentan un dorso oscuro que varía desde el gris oscuro casi negro (morfo tipo *rattus*) hasta el pardo rojizo (*frugivorus* y *alexandrinus*), mientras que el vientre es más claro, oscilando entre gris, blanco o amarillento según el morfo tipo. La separación entre el dorso y el vientre es visible, aunque no muy

marcada. Se distingue de la rata parda (*Rattus norvegicus*) por su coloración y por tener una cola siempre más larga que el cuerpo. Las hembras poseen cinco pares de mamas (dos pectorales y tres inguinales). Su cráneo es más corto y ovalado que el de *R. norvegicus*, con arcos zigomáticos menos prominentes y crestas temporales y occipitales con un diseño curvo característico. La mandíbula presenta una hendidura posterior con una zona angular más corta. (Palomo et al., 2007).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales

##### 3.1.1. *Material biológico*

- *Rattus norvegicus*
- *Rattus rattus*

##### 3.1.2. *Materiales de laboratorio*

- Agujas hipodérmicas 25G X 16mm
- Gasa
- Esparadrapo
- Gradilla
- Algodón
- Probeta
- Vasos precipitados

##### 3.1.3. *Reactivo*

- Thioacetamida
- Alcohol 70°
- Alcohol yodado
- Hipoclorito de sodio (lejía)
- Agua destilada
- Halatal
- Solución fisiológica salina

#### **3.1.4. Equipos**

- Centrífuga
- Micro centrífuga
- Analizador hematológico automatizado
- Analizador bioquímico sami-automatizado
- Micrótopo
- Procesador del tejido
- Microscopio

#### **3.1.5. Material de uso personal**

- Equipo de protección personal (EPP)

### **3.2. Diseño de la investigación**

El estudio tiene un diseño experimental, se manipulan variables independientes (como agentes inductores de fibrosis hepática) para observar sus efectos en variables dependientes (características fisiológicas e histológicas del hígado) y es de corte longitudinal, ya que se realizó un seguimiento de los sujetos experimentales durante un período determinado para evaluar la progresión de la fibrosis hepática.

### **3.3. Variables de estudio**

La variable independiente analizada fue el agente inductor de fibrosis hepática (TAA), en roedores experimentales y la variable dependiente fueron los cambios en los marcadores hematológicos, bioquímicos e histológicos.

### **3.4. Población y muestra**

La población estuvo conformada por roedores sinantrópicos. La muestra estuvo representada por 132 ratas en sus 4 variantes, pertenecientes a las especies *Rattus rattus* (rata negra) y *Rattus norvegicus* (rata parda).

### **3.5. Métodos**

#### **3.5.1. *Declaración ética***

Este estudio contribuye un gran alcance en el desarrollo del proyecto de investigación, cuya ejecución recibió la aprobación del Comité de Ética en Investigación, en noviembre del 2022. El documento de autorización está categorizado como Resolución Directoral con código 841-2022-OEGDRRHH-DR/DRS.T/GOB.REG.TACNA.

#### **3.5.2. *Preparación del material biológico***

Las ratas sinantrópicas acondicionadas en los ambientes del bioterio de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG), en Tacna. Se independizaron en jaulas construidas por varillas y mallas metálicas, con una superficie de 40cm x 28cm x 20 cm provistas de comederos de vidrio y bebederos móviles de polietileno. Se suministró una vez al día la dieta con valor nutricional y balanceada. El agua se ofreció ad libitum. Los ambientes del bioterio mantuvieron condiciones ambientales controladas de luz-oscuridad (12h x 12h), temperatura entre 18-22°C y humedad relativa ambiental entre 55-65 %.

#### **3.5.3. *Selección de los roedores***

Se seleccionaron 132 ratas hembras de 3 meses de edad, distribuidas en 11 grupos con 12 especímenes cada grupo. Dentro de cada grupo se escogieron 4 linajes según la coloración del pelaje (pardas, negras, moteadas y albinas), con 3 repeticiones.

#### **3.5.4. *Tratamiento con tioacetamida (TAA)***

Para el estudio se utilizó tioacetamida (ACS,Reag. Ph Eur), proveniente de la empresa Merck KGaA, China. La sustancia contó con su respectivo análisis y certificación proveniente de los laboratorios de la misma empresa. Para la prueba de la sustancia (TAA) en ratas, se diluyó las concentraciones de (300, 290, 280, 270, 260, 250, 240, 230, 220, 210 y 200 mg/kg TAA) en solución salina fisiológica (suero). Una vez preparada las concentraciones de TAA se realizó la inducción de las concentraciones a los grupos seleccionados, la inoculación se realizó

en la región ventral del espécimen con una jeringa de tuberculina (25G x 16mm). Los especímenes con el tratamiento se realizó la evaluación de los signos vitales, tales como el ritmo respiratorio y ritmo cardíaco, además, del pesaje de los animales. Este procedimiento se llevó a cabo cada 3 días, durante 86 a 112 días.

### **3.5.5. Pruebas hematológicas y bioquímicas**

Los parámetros hematológicos y bioquímicos se evaluaron a las ratas que se determinaron las concentraciones de la dosis letal correspondiente. Las muestras de sangre se colectaron de la vena de la cola de ratas hembras y se colocaron en tubos capilares, con EDTA para el recuento celular y sin EDTA para obtener el suero por centrifugación.

Para realizar el recuento de glóbulos rojos en cámara de Neubauer, la sangre se diluyó con solución hayen (dilución 1/200; Chemquim E.I.R.L tda, Perú) y para el recuento de glóbulos blancos se diluyó con solución turk (dilución 1/200; Chemquim E.I.R.L tda, Perú). Para el conteo leucocitario, se depositaron 10 microlitros de sangre en un portaobjetos, se extendió la monocapa y se dejó secar a temperatura ambiente. Se realizó una tinción de Wright durante 6 minutos, seguido del tratamiento con una solución buffer fosfato (pH 6,4) por 4 minutos. Finalmente, se observaron las muestras bajo un microscopio óptico utilizando aceite de inmersión con un objetivo de 100x, con el propósito de evaluar tanto la cantidad total como la diferencial de leucocitos. Los resultados se contrastaron con los obtenidos mediante un analizador hematológico automatizado (Genrui KT-40, China).

Los parámetros bioquímicos en el suero se midieron en un analizador automático (Semi-auto Chemistry Analyzer URIT-880, China). Para determinar la actividad de las enzimas gamma-glutamyl transferasa (GGT), transaminasa glutámica oxalacética (GOT), transaminasa glutámico pirúvica (GPT), fosfatasa alcalina, así como la concentración de albúmina, glucosa y proteínas totales, se utilizaron reactivos de (QCA Química Clínica Aplicada S.A., España) y se siguieron las indicaciones del fabricante.

### **3.5.6. *Unidades experimentales***

La determinación de la dosis letal media (DL50) de la sustancia TAA se realizó utilizando cuatro linajes experimentales. Posteriormente, se practicó la eutanasia de los especímenes y se procedió a la extracción de órganos, específicamente el hígado. A nivel macroscópico, se recopilaron datos relevantes sobre las características observadas en los hígados, incluyendo descripciones patológicas detalladas y la captura de imágenes para su análisis.

### **3.5.7. *Análisis estadístico***

Todas las figuras (diagramas de cajas) y pruebas estadísticas se realizaron con el programa R v.4.3.2 (The R Foundation). En todos los casos, se consideró un valor de significancia para valores de  $p \leq 0,05$ .

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

#### 4.1. Determinación de la dosis tóxica media de TAA en roedores sinantrópicos y el efecto en los signos vitales.

La determinación de la dosis tóxica media (TD50) de Thioacetamida (TAA), en roedores sinantrópicos resultó fundamental para establecer umbrales de los signos vitales, se identificó mecanismos de toxicidad y anticipó efectos adversos en el organismo.

**Tabla 1**

*Datos de los signos vitales en ratas albinas y ratas moteadas sometidas a TAA (250)*

SEM	RAT ALBINA - TAA 250				RAT MOTEADA - TAA 250			
	RR.RR		RR.CC		RR.RR		RR.CC	
	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	
1	131	4,7882	293	4,5580	85	1,1863	100	2,1382
2	132	4,5207	290	3,9810	86	1,7704	100	2,1372
3	134	5,3365	288	3,0464	85	1,6986	99	2,6779
4	132	5,1471	292	1,5813	85	1,8361	100	2,7241
5	134	7,8581	290	5,8176	86	1,3028	99	0,8465
6	132	4,1234	292	3,7753	85	1,2451	100	1,7660
7	131	8,8966	292	2,7583	86	2,3674	100	0,5816
8	132	9,0780	290	5,0414	85	2,7143	100	1,9985
9	131	9,9458	289	2,5502	86	2,3743	100	1,4960
10	133	5,9211	288	2,5782	85	0,9282	100	1,5992
11	128	7,4554	290	1,3153	85	1,9620	100	2,8810
12	100	1,2941	290	3,3199	85	2,3791	100	2,3356
13	101	1,0818	290	4,5280	86	2,2702	100	1,9179
14	31	6,8121	95	4,0825	51	3,6765	86	3,8687

*Nota:* TAA=Thioacetamida, RR.RR=Ritmo respiratorio, RR.CC=Ritmo cardiaco,

RAT=Rata

En la tabla 1, los datos obtenidos de la rata albina (TAA-250), a medida que avanza el tratamiento, después de la semana 6, hay un aumento notable en la desviación estándar en ambos parámetros (RR.RR y RR.CC), lo que sugiere una mayor variabilidad en las respuestas de la rata al tratamiento. La reducción significativa en la media de RR.RR en las semanas 10 a

13, seguida por un ligero aumento en la semana 14, sugiere que el tratamiento a la rata podría estar experimentando un deterioro en su capacidad de respuesta. La fluctuación en la media y la desviación estándar de RR. RR y RR.CC indica una inconsistencia en la respuesta crítica del organismo de la rata, lo cual está relacionado con fisiológicos internos.

En los datos de la rata moteada (TAA – 250), se observa que las medias de RR.RR y RR.CC son bastante consistentes durante la mayor parte del tratamiento, lo que indica una respuesta estable. Sin embargo, a medida que avanzan las mediciones, aumenta la desviación estándar de ambos parámetros, reflejando mayor variabilidad en las respuestas, especialmente hacia el final. La caída marcada en la media de RR.RR a 51, junto con el incremento en la desviación estándar en la última medición, sugiere un deterioro en la respuesta de la rata, posiblemente debido a una menor efectividad del tratamiento o un empeoramiento de su condición general.

**Tabla 2**

*Datos de los signos vitales en ratas negras y ratas pardas, sometidas a TAA (270) y TAA (290), respectivamente.*

SEM	RAT NEGRA - TAA 270				RAT PARDA - TAA 290			
	RR. RR		RR.CC		RR.RR		RR.CC	
	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	MEDIA ± DS	
1	45	1,9645	90	1,2300	51	2,8448	92	3,8566
2	45	2,0057	90	1,1276	50	1,2410	95	2,8783
3	45	2,3474	90	1,8281	52	1,9933	96	3,7162
4	45	2,0272	90	1,8981	52	2,0259	96	3,8471
5	44	1,7087	88	1,7983	52	2,1486	99	4,3075
6	45	1,1111	90	1,4978	53	1,5199	95	1,4848
7	45	2,1025	91	2,3946	51	2,1296	95	4,0734
8	46	1,6201	90	1,4184	52	0,6792	96	5,2325
9	45	2,8846	90	1,7494	52	0,8504	94	5,1333
10	45	2,0280	90	1,4438	51	1,6176	96	4,5667
11	45	2,4479	90	1,8949	50	1,3663	94	4,7090
12	46	1,6219	90	1,3766	50	1,2256	98	1,5972
13	45	1,9469	89	1,7991	51	1,4095	96	1,7402
14	45	1,8329	89	2,0350	50	1,0915	97	2,0561

*Nota:* TAA=Thioacetamida, RR.RR=Ritmo respiratorio, RR.CC=Ritmo cardiaco,

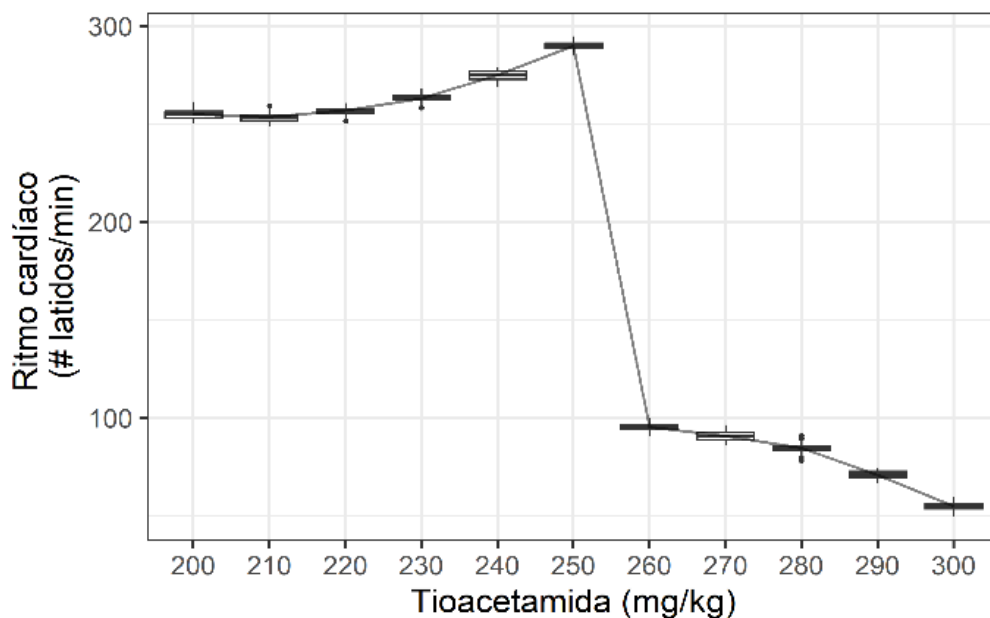
RAT=Rata

En la tabla 2, la "Rata Negra" bajo el tratamiento TAA 270 ha mostrado una respuesta relativamente estable con picos menores de variabilidad, y hacia el final del tratamiento, se observa un ligero deterioro en la capacidad crítica. Estos resultados sugieren que el tratamiento ha sido eficaz en mantener la estabilidad de la respuesta durante la mayor parte del tiempo, pero puede haber signos iniciales de desgaste en las últimas etapas.

La rata parda mostró una respuesta estable al tratamiento TAA 290 en términos de RR. RR, aunque hubo cierta variabilidad al inicio y en la mitad del período. En contraste, la capacidad crítica de RR.CC fue más variable, sugiriendo mayor sensibilidad a cambios durante el tratamiento, posiblemente debido a factores fisiológicos o a la dosificación. Las elevadas desviaciones estándar en las mediciones intermedias podrían indicar un período de inestabilidad en la respuesta de la rata.

### Figura 9

*Efecto de la TAA sobre los signos vitales y el ritmo cardíaco*

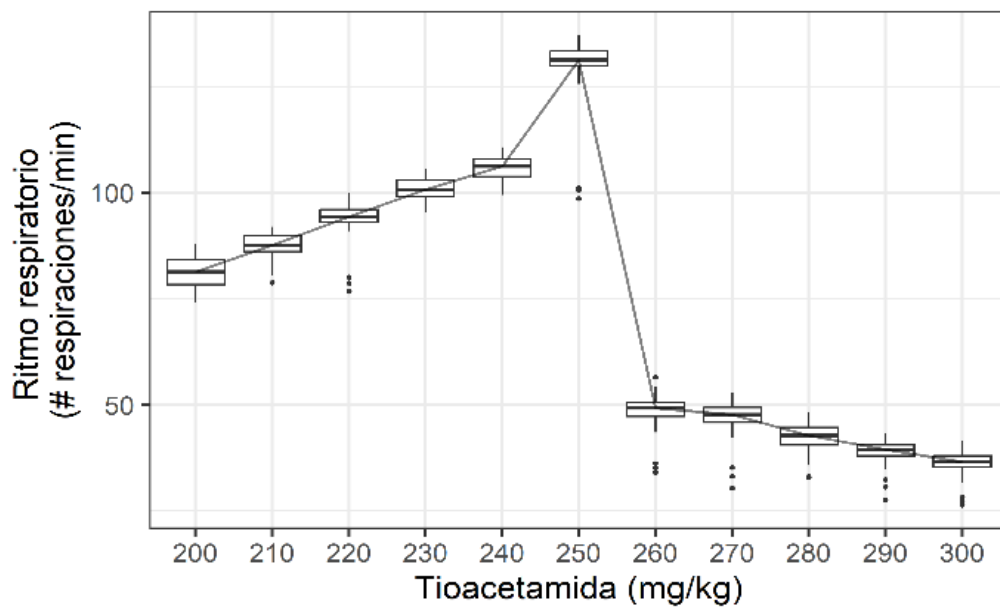


En la figura 9, el gráfico sugiere que la thioacetamida tiene un efecto dosis-dependiente en el ritmo cardíaco. Hasta una cierta dosis, no parece haber un efecto significativo, pero una vez que se supera el umbral crítico (entre 250 y 260 mg/kg), el ritmo cardíaco se ve

drásticamente afectado, lo que podría estar relacionado con toxicidad o efectos adversos graves en el sistema cardiovascular. Este tipo de gráfico es crucial para determinar la dosis segura de una sustancia y para identificar puntos críticos donde los efectos adversos comienzan a manifestarse de manera significativa.

### Figura 10

*Efecto de la TAA sobre los signos vitales y el ritmo respiratorio*



En la figura 10, el gráfico sugiere que la thioacetamida tiene un efecto dosis-dependiente en el ritmo respiratorio. Inicialmente, la sustancia parece estimular la respiración hasta un punto crítico (250 mg/kg); sin embargo, una vez que se supera este umbral, la capacidad respiratoria se ve gravemente comprometida, lo que podría indicar efectos adversos graves y potencialmente letales.

Este análisis es crucial para entender cómo la thioacetamida afecta la función respiratoria y para identificar las dosis en las que los efectos adversos empiezan a ser peligrosos, lo cual es fundamental en estudios de toxicidad y seguridad de sustancias químicas.

**Tabla 3***Datos de los pesos en las ratas inducidas con TAA durante más de 14 semanas*

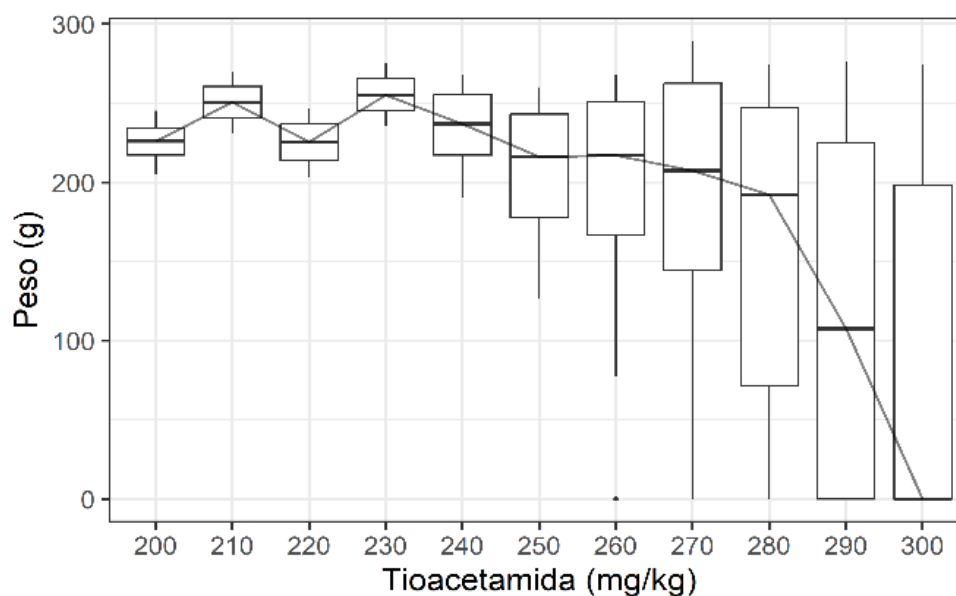
TAA	PARDAS			NEGRAS			MOTEADAS			ALBINAS		
	MEDIA	±	DS	MEDIA	±	DS	MEDIA	±	DS	MEDIA	±	DS
<b>200</b>	271,4	5,82		252,5	4,81		258,2	16,11		223,4	12,99	
<b>210</b>	292,9	9,40		272,3	15,36		233,8	7,49		248,2	16,79	
<b>220</b>	288,9	2,62		239,4	2,89		251,5	11,37		223,1	14,75	
<b>230</b>	276,9	5,34		262,5	2,62		267,7	0,78		253,0	3,08	
<b>240</b>	276,8	6,16		254,7	4,65		237,5	16,60		229,6	10,34	
<b>250</b>	292,0	9,99		249,4	12,52		225,8	4,19		198,0	9,15	
<b>260</b>	273,8	6,30		230,6	6,62		188,4	6,13		178,1	2,38	
<b>270</b>	264,7	9,87		216,4	15,17		160,5	15,05		165,5	12,79	
<b>280</b>	256,9	14,82		199,2	10,21		156,4	3,57		143,5	8,34	
<b>290</b>	231,2	8,89		150,6	16,79		109,8	1,99		101,3	2,81	
<b>300</b>	145,0	18,45		107,6	9,11		81,6	5,32		80,3	4,16	

En la tabla 3, todos los grupos de ratas muestran una tendencia decreciente en los valores medidos a medida que la dosis de TAA aumenta. Esto sugiere un efecto adverso dosis-dependiente del TAA en la función o respuesta fisiológica medida en estos animales. Las desviaciones estándar indican que hay una variabilidad considerable en las respuestas, especialmente en las dosis más bajas, lo que podría implicar diferencias individuales en la sensibilidad al TAA dentro de cada grupo.

Todas las ratas muestran una disminución en la respuesta a dosis altas de TAA, las ratas pardas parecen mantener valores más altos durante más tiempo comparado con otros grupos, lo que podría sugerir una mayor resistencia o un menor impacto inicial del TAA en este grupo específico. Este análisis es importante para comprender cómo diferentes grupos de ratas responden al TAA y para identificar los niveles de dosis donde los efectos adversos comienzan a ser significativos.

## Figura 11

*Efecto de TAA sobre los signos vitales y el peso en ratas*

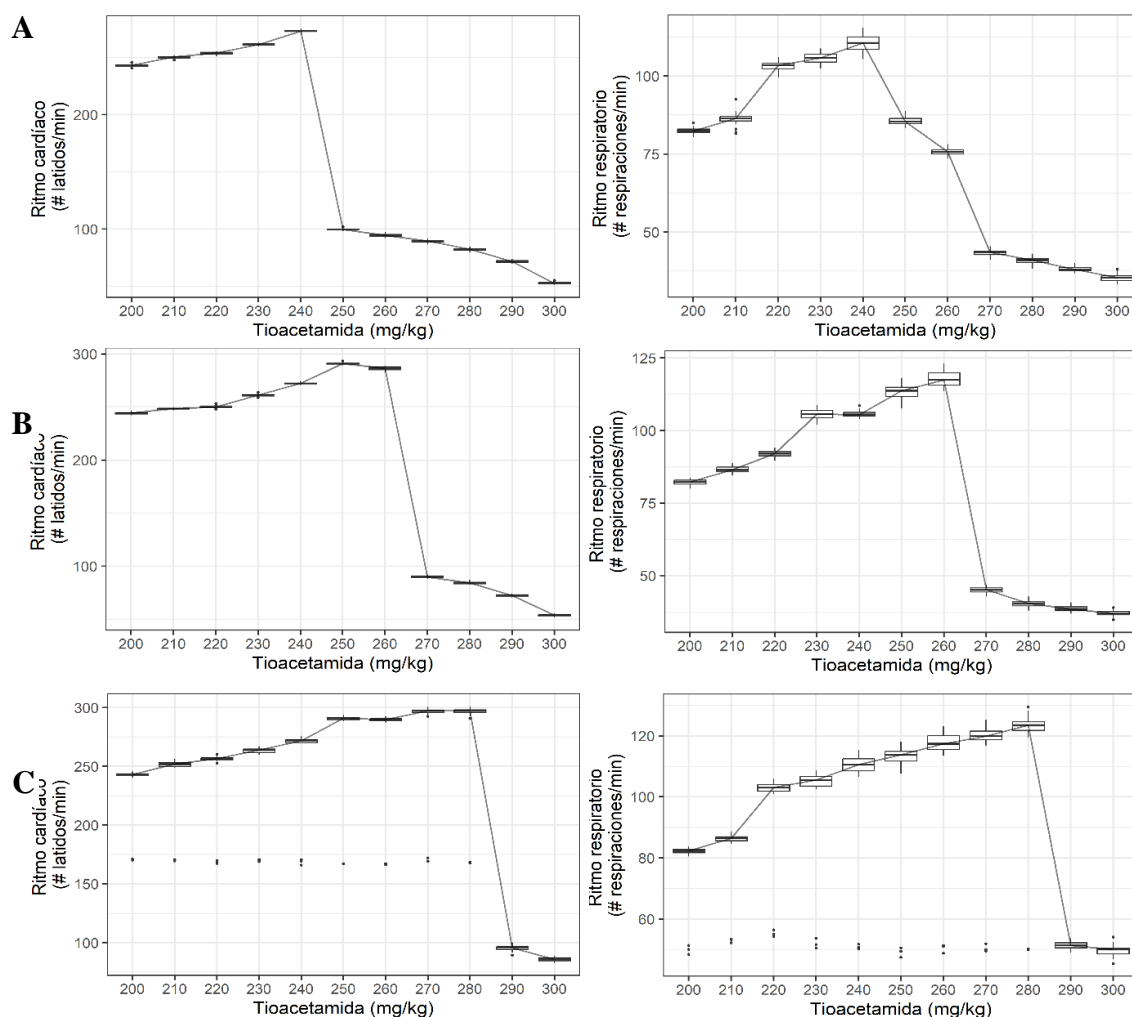


En la figura 11, indica claramente que el efecto de la thioacetamida en el peso corporal es dosis-dependiente. En dosis bajas, no hay un efecto notable, pero a medida que la dosis aumenta, el peso corporal disminuye drásticamente. Las dosis más altas de thioacetamida (260-300 mg/kg) parecen ser extremadamente perjudiciales, con una pérdida de peso significativa que podría estar asociada con efectos tóxicos graves, mala salud general o letalidad.

Este gráfico es crucial para identificar la dosis máxima tolerada y las dosis que pueden causar efectos adversos significativos, como la pérdida extrema de peso, en los sujetos experimentales. Estos resultados serían importantes para establecer límites de seguridad y entender el perfil de toxicidad de la thioacetamida.

**Figura 12**

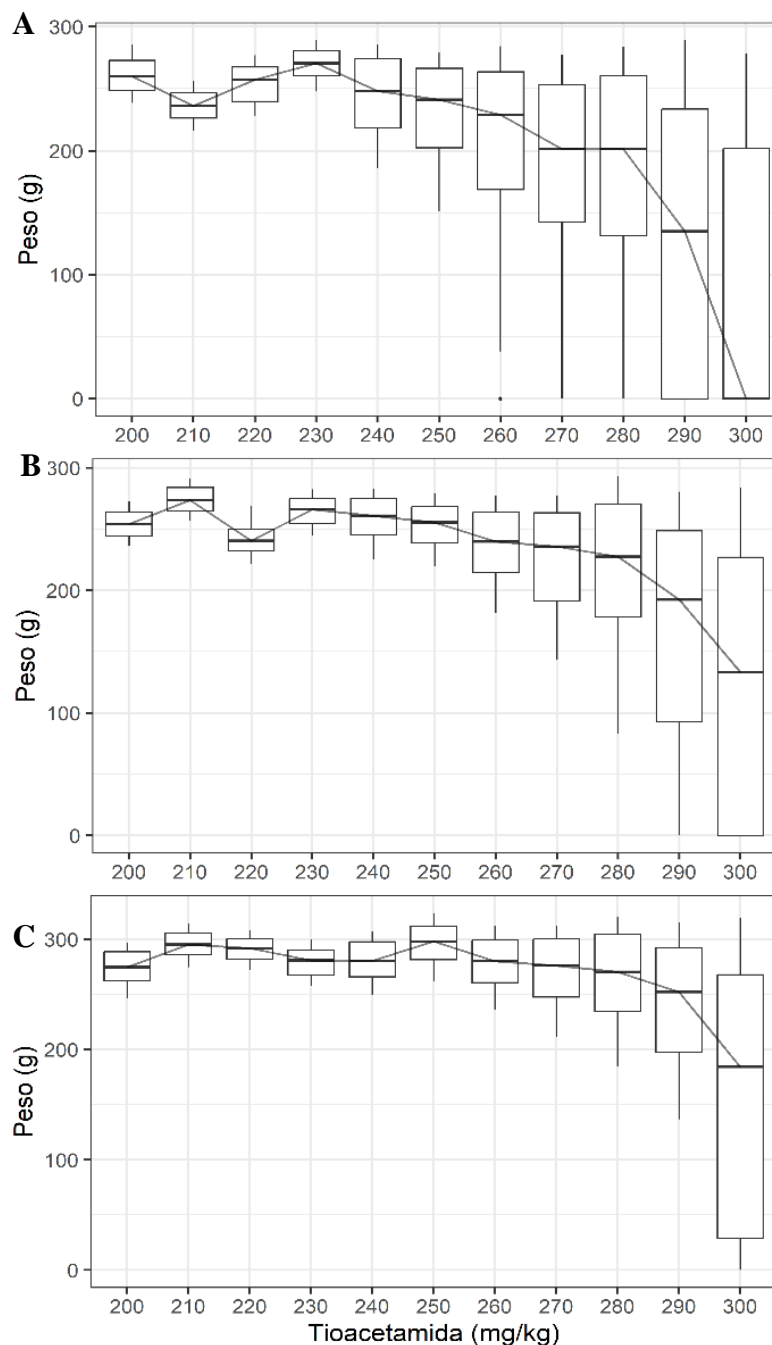
*Efecto de la TAA sobre los signos vitales y el peso en las variantes*



En la figura 12, la comparación del efecto tóxico de la TAA sobre el ritmo cardíaco y ritmo respiratorio en las variantes de rata sinantrópicas moteada (A), negra (B) y parda (C). Los datos corresponden a ratas que recibieron un inóculo de TAA cada tres días por vía IV, durante 12 semanas. Para cada concentración de TAA se muestran todos los valores obtenidos por dos observadores independientes durante las 12 semanas del experimento. La línea mostrada corresponde a la mediana de cada caja.

### Figura 13

Comparación del efecto tóxico de la TAA sobre el peso en las variantes de rata sinantrópicas moteada (A), negra (B) y parda (C).



En la figura 13, los datos corresponden a ratas que recibieron un inóculo de TAA cada tres días por vía IV, durante 12 semanas. Para cada concentración de TAA se muestran todos

los valores obtenidos por dos observadores independientes durante las 12 semanas del experimento. La línea mostrada corresponde a la mediana de cada caja.

#### 4.2. Caracterización de la respuesta hematológica y bioquímica de los roedores sinantrópicos a la inducción experimental de fibrosis mediante el uso de TAA.

**Tabla 4**

*Datos bioquímicos de las ratas albinas*

TAA-250	N°	CÓDIGO	BIOQUÍMICA						
			GLU	TGO	TGP	GGT	FA	ALB	TP
CONTROL	1	CRA	108	17	21	9	83	4,7	7,2
	2	CRA	84	13	15	12	112	4,1	6,5
	3	CRA	96	16	23	8	65	3,6	6,4
			<b>96,0</b>	<b>15,3</b>	<b>19,7</b>	<b>9,7</b>	<b>86,7</b>	<b>4,1</b>	<b>6,7</b>
INDUCCIÓN	4	IRA	58	87	45	59	164	2,5	3,2
	5	IRA	47	79	51	71	161	2,3	2,9
	6	IRA	61	65	92	68	173	2,4	2,5
			<b>55,3</b>	<b>77,0</b>	<b>62,7</b>	<b>66,0</b>	<b>166,0</b>	<b>2,4</b>	<b>2,9</b>

En la tabla 4, el análisis estadístico de los datos muestra que el grupo bajo inducción presenta un promedio de glucosa significativamente menor (55,3) en comparación con el grupo control (96,0), lo que podría indicar un efecto del tratamiento sobre el metabolismo de la glucosa. Además, los valores de las enzimas hepáticas TGO y TGP son notablemente más altos en el grupo de inducción (TGO: 77,0; TGP: 62,7) frente al control (TGO: 15,3; TGP: 19,7), lo que sugiere posible daño hepático. Asimismo, las enzimas GGT y FA están elevadas en el grupo inducido (GGT: 66,0; FA: 166,0) en comparación con el control (GGT: 9,7; FA: 86,7), reforzando la evidencia de estrés hepático. Los niveles de albúmina más bajos en el grupo inducido (2,4 frente a 4,1)

sugieren afectación hepática o nutricional, mientras que el tiempo de protrombina (TP) menor en el grupo inducido (2,9 con 6,7) podría implicar alteraciones en la coagulación. En resumen, el grupo inducido muestra signos claros de daño hepático y afectaciones metabólicas frente al grupo control.

**Tabla 5**

*Datos bioquímicos de las ratas moteadas*

TAA- 250	N°	CÓDIGO	BIOQUÍMICA						
			GLU	TGO	TGP	GGT	FA	ALB	TP
CONTROL	1	CRM	116	15	17	18	149	5,2	8,3
	2	CRM	96	17	21	10	83	4,8	7,2
	3	CRM	110	16	23	9	65	3,5	6,4
			<b>107,3</b>	<b>16,0</b>	<b>20,3</b>	<b>12,3</b>	<b>99,0</b>	<b>4,5</b>	<b>7,3</b>
INDUCCIÓN	4	IRM	69	91	63	62	152	2,6	3,1
	5	IRM	58	87	45	59	164	2,5	3,2
	6	IRM	61	65	92	68	173	2,4	2,5
			<b>62,7</b>	<b>81,0</b>	<b>66,7</b>	<b>63,0</b>	<b>163,0</b>	<b>2,5</b>	<b>2,9</b>

En la tabla 5, el análisis comparativo de los dos grupos revela que el grupo bajo inducción muestra una notable disminución en la regulación de la glucosa (62,7 frente a 107,3 en el grupo control), lo que sugiere que la inducción afecta el metabolismo de la glucosa. En términos de daño hepático, el grupo inducido presenta niveles significativamente elevados de TGO (81,0 frente a 16,0), TGP (66,7 frente a 20,3), GGT (63,0 frente a 12,3) y FA (163,0 frente a 99,0), lo que indica un claro estrés o daño en el hígado. La disminución de la albúmina (2,5 frente a 4,5) refuerza esta conclusión, apuntando a una posible alteración en la función hepática o nutricional. Asimismo, el tiempo de protrombina reducido en el grupo inducido (2,9 frente a 7,3) sugiere alteraciones en la coagulación, lo que podría estar relacionado con el deterioro de la

función hepática. En resumen, el grupo bajo inducción exhibe múltiples marcadores de daño hepático y alteraciones metabólicas que afectan tanto la regulación de la glucosa como la capacidad de coagulación.

**Tabla 6**

*Datos bioquímicos de las ratas negras*

TAA- 270	N°	CÓDIGO	BIOQUIMICA						
			GLU	TGO	TGP	GGT	FA	ALB	TP
CONTROL	1	CRN	121	23	21	12	89	5,4	8,1
	2	CRN	117	16	19	19	121	4,8	7,9
	3	CRN	98	20	23	13	98	4,6	7,6
			<b>112,0</b>	<b>19,7</b>	<b>21,0</b>	<b>14,7</b>	<b>102,7</b>	<b>4,9</b>	<b>7,9</b>
INDUCCIÓN	4	IRN	58	80	87	73	121	2,9	3,4
	5	IRN	60	81	52	69	135	2,1	3,2
	6	IRN	51	65	81	70	139	2	3
			<b>56,3</b>	<b>75,3</b>	<b>73,3</b>	<b>70,7</b>	<b>131,7</b>	<b>2,3</b>	<b>3,1</b>

En la tabla 6, el análisis estadístico revela que el grupo control tiene un promedio de glucosa significativamente mayor (112,0) en comparación con el grupo inducido (56,3), lo que sugiere una disminución en la regulación de la glucosa en el grupo inducido. En cuanto a los marcadores hepáticos, los niveles de TGO (75,3 con 19,7), TGP (73,3 con 21,0), GGT (70,7 con 14,7) y FA (131,7 con 102,7) son considerablemente más altos en el grupo inducido, lo que indica un posible daño hepático o muscular. Además, los niveles de albúmina son significativamente menores en el grupo inducido (2,3 con 4,9), lo que refuerza la hipótesis de afectación hepática o nutricional. El tiempo de protrombina es menor en el grupo inducido (3,1 con 7,9), lo que sugiere alteraciones en la coagulación sanguínea. En resumen, el grupo inducido muestra marcadores que evidencian daño hepático y disfunciones metabólicas en comparación con el grupo control.

**Tabla 7***Datos bioquímicos de las ratas pardas*

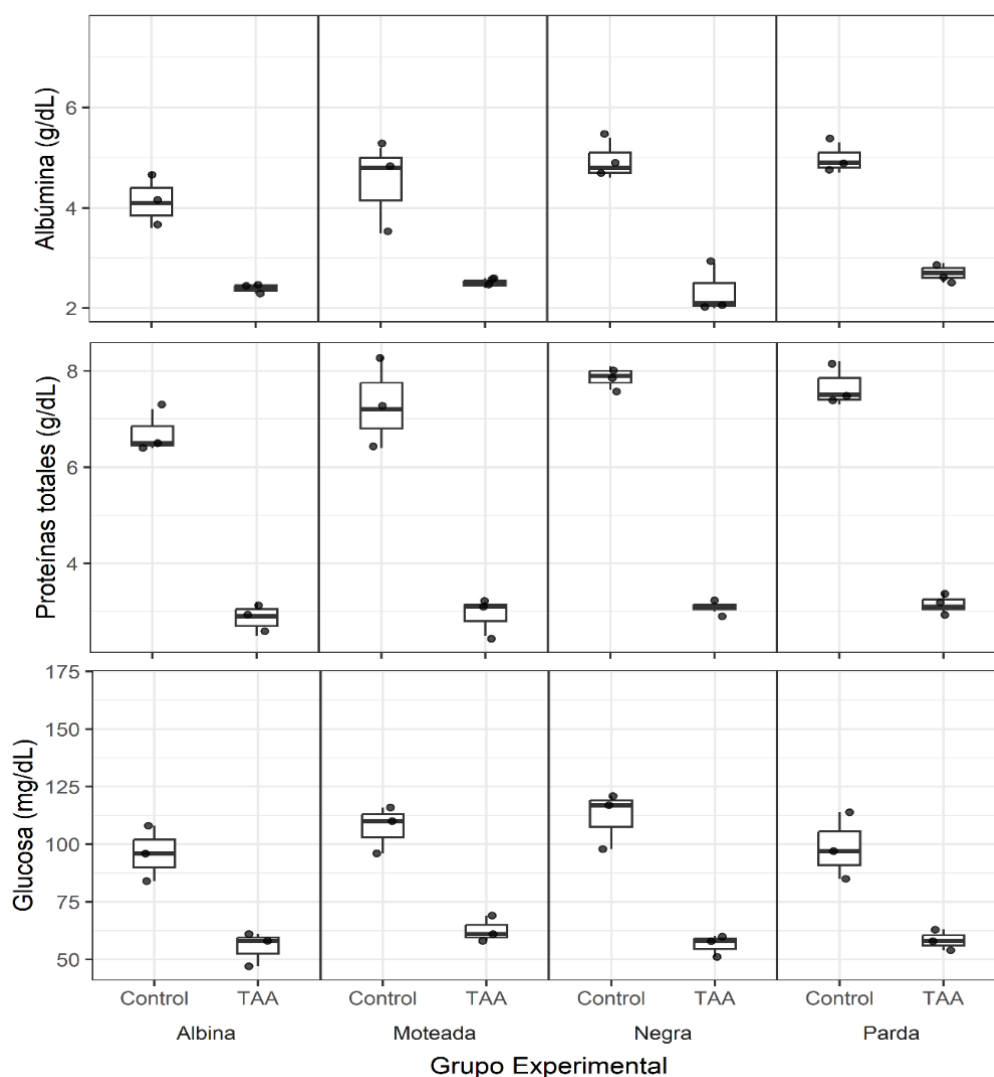
TAA- 290	N°	CÓDIGO	BIOQUIMICA						
			GLU	TGO	TGP	GGT	FA	ALB	TP
CONTROL	1	CRP	114	21	21	19	121	5,3	8,2
	2	CRP	97	17	19	11	97	4,9	7,3
	3	CRP	85	16	23	9	107	4,7	7,5
			<b>98,7</b>	<b>18,0</b>	<b>21,0</b>	<b>13,0</b>	<b>108,3</b>	<b>5,0</b>	<b>7,7</b>
INDUCCIÓN	4	IRP	63	69	87	63	127	2,7	3,1
	5	IRP	54	87	52	57	130	2,9	3,4
	6	IRP	58	74	81	66	145	2,5	3,0
			<b>58,3</b>	<b>76,7</b>	<b>73,3</b>	<b>62,0</b>	<b>134,0</b>	<b>2,7</b>	<b>3,2</b>

En la tabla 7, el análisis estadístico revela que el grupo inducido presenta una disminución significativa en los niveles de glucosa (58,3) en comparación con el grupo control (98,7), lo que sugiere que la inducción ha afectado el metabolismo de la glucosa, posiblemente provocando hipoglucemia en los sujetos. inducidos. Los niveles elevados de TGO (76,7 con 18,0) y TGP (73,3 con 21,0) en el grupo inducido refuerzan la hipótesis de daño hepático o muscular. Asimismo, el aumento en los valores de GGT (62,0 con 13,0) y FA (134,0 con 108,3) indica un incremento en la actividad hepática, lo que sugiere estrés o daño en el hígado.

Los niveles de albúmina significativamente más bajos en el grupo inducido (2,7 con 5,0) apuntan a una afectación en la función hepática o un estado nutricional consolidado. Además, el tiempo de protrombina más corto en el grupo inducido (3,2 con 7,7) podría estar relacionado con una alteración en la capacidad de coagulación. En resumen, el grupo inducido muestra marcadores claros de daño hepático y alteraciones metabólicas, lo que sugiere que la inducción ha impactado significativamente la función hepática y la regulación metabólica, en comparación con el grupo control.

**Figura 14**

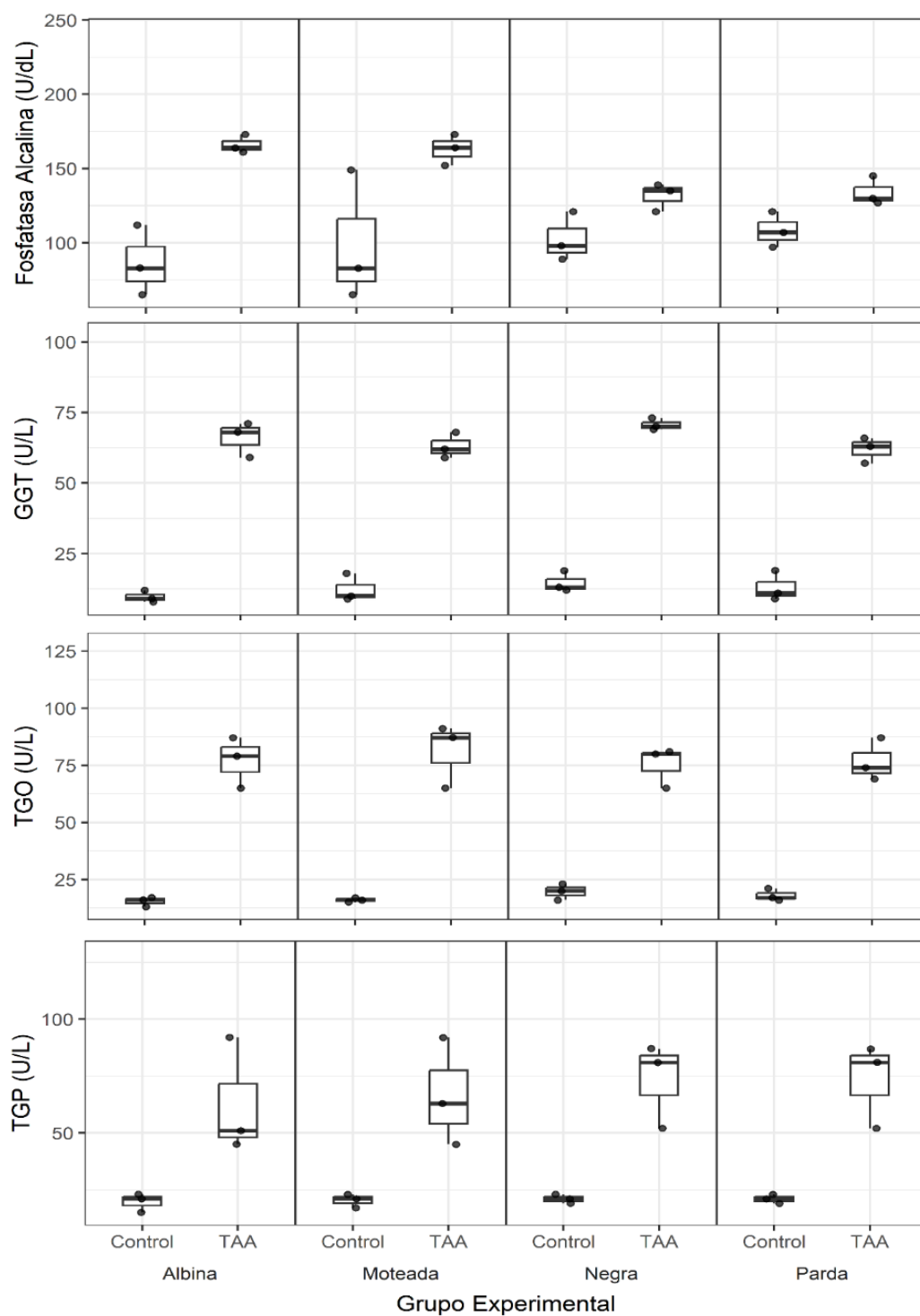
*Efecto de la TAA sobre parámetros bioquímicos*



En la figura 14, el efecto de la TAA sobre la concentración de albúmina, proteínas totales y glucosa en las variantes de rata tratadas con una concentración de TAA que corresponde al valor de DT50 (rata albina: 250 mg/kg; rata moteada 250 mg/kg; rata negra: 270 mg/kg; rata parda: 290 mg/kg), cada punto experimental muestra el valor de la variable determinado para cada animal incluido en el ensayo (n=3).

**Figura 15**

*Efecto de la TAA sobre parámetros bioquímicos en las variantes*



En la figura 15, el Efecto de la TAA sobre la actividad de la enzima fosfatasa alcalina, y las transaminasas GGT, TGO, TGP en las variantes de rata tratadas con una concentración

de TAA que corresponde al valor de DT50 (rata albina: 250 mg/kg; rata moteada 250 mg/kg; rata negra: 270 mg/kg; rata parda: 290 mg/kg), cada punto experimental muestra el valor de la variable determinado para cada animal incluido en el ensayo (n=3).

**Tabla 8**

*Datos hematológicos de las ratas albinas*

TAA-250	N°	CÓDIGO	HEMATOLOGÍA										
			Hemograma							Recuento Leucocitario	Recuento Eritrocitario	Hct	Hgb
			Abs	Seg	Eos	Bas	Mon	Lin	Plt				
	1	CRA	1	48	1	0	3	47	605	8400	7200000	49,8	12,6
CONTROL	2	CRA	1	40	0	0	4	55	617	8750	7120000	51,8	13,1
	3	CRA	2	50	1	1	2	44	619	8100	7200000	55,9	10,3
			<b>1,3</b>	<b>46,0</b>	<b>0,7</b>	<b>0,3</b>	<b>3,0</b>	<b>48,7</b>	<b>613,7</b>	<b>8417</b>	<b>7173333</b>	<b>52,5</b>	<b>12,0</b>
	4	IRA	1	26	1	0	7	65	381	4149	3210000	36,9	10,4
INDUCCIÓN	5	IRA	2	25	0	0	7	66	374	3740	3010000	31,8	9,7
	6	IRA	2	26	1	1	6	64	350	4093	3140000	30,9	11,3
			<b>1,7</b>	<b>25,7</b>	<b>0,7</b>	<b>0,3</b>	<b>6,7</b>	<b>65,0</b>	<b>368,3</b>	<b>3994</b>	<b>3120000</b>	<b>33,2</b>	<b>10,5</b>

En la tabla 8, el grupo inducido presenta inmunosupresión y anemia, evidenciados por una disminución significativa en los recuentos de leucocitos, eritrocitos, así como en los niveles de hematocrito y hemoglobina.

Estos hallazgos sugieren una posible disfunción de la médula ósea o una enfermedad que afecta la producción de células sanguíneas. Además, la reducción en el número de plaquetas indica un riesgo potencial de trastornos en la coagulación sanguínea. No obstante, el aumento de linfocitos y monocitos sugiere una activación del sistema inmune, probablemente en respuesta al tratamiento o la inducción.

**Tabla 9***Datos hematológicos de las ratas moteadas*

TAA-250	N°	CODIGO	HEMATOLOGÍA										
			Hemograma							Recuento Leucocitario	Recuento Eritrocitario	Hct	Hgb
			Abs	Seg	Eos	Bas	Mon	Lin	Plt				
	1	CRM	1	56	0	0	2	41	601	7250	7120000	54,2	15,9
<b>CONTROL</b>	2	CRM	1	45	0	0	5	49	600	7050	7130000	49,8	14,8
	3	CRM	1	55	0	0	4	40	604	6500	6890000	56,9	14,2
			<b>1,0</b>	<b>52,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,0</b>	<b>3,7</b>	<b>43,3</b>	<b>601,7</b>	<b>6933</b>	<b>7046666</b>	<b>53,6</b>	<b>15,0</b>
	4	IRM	2	27	0	0	6	65	402	3592	3210000	37,2	11,1
<b>INDUCCIÓN</b>	5	IRM	1	26	1	0	7	65	399	4249	3180000	36,9	10,4
	6	IRM	2	26	1	1	6	64	381	4193	3100000	30,9	11,3
			<b>1,7</b>	<b>26,3</b>	<b>0,7</b>	<b>0,3</b>	<b>6,3</b>	<b>64,7</b>	<b>394,0</b>	<b>4011</b>	<b>3163333</b>	<b>35,0</b>	<b>10,9</b>

En la tabla 9, el grupo inducción muestra claras señales de anemia, con un recuento de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina significativamente más bajos que el grupo control.

Los sujetos del grupo inducción también parecen estar experimentando inmunosupresión, ya que su recuento de leucocitos es mucho más bajo, con una menor cantidad de neutrófilos segmentados y plaquetas, lo que sugiere un estado comprometido del sistema inmunológico y de coagulación. Sin embargo, el aumento en los linfocitos y monocitos en el grupo inducción sugiere que el sistema inmune está respondiendo de alguna manera al tratamiento o condición inducida, posiblemente en un intento de combatir algún proceso inflamatorio o infeccioso.

En resumen, el grupo inducido está experimentando alteraciones significativas tanto en su capacidad de producción de glóbulos rojos como en su función inmune, lo que sugiere que la inducción o tratamiento está teniendo un impacto negativo en su salud hematológica.

**Tabla 10***Datos hematológicos de las ratas negras*

TAA- 270	N°	CODIGO	HEMATOLOGÍA										
			Hemograma							Recuento Leucocitario	Recuento Eritrocitario	Hct	Hgb
			Abs	Seg	Eos	Bas	Mon	Lin	Plt				
	1	CRN	1	45	0	0	4	50	566	10150	10160000	52,5	15,2
<b>CONTROL</b>	2	CRN	1	45	0	1	5	48	587	9350	9650000	48,9	16,1
	3	CRN	1	44	0	0	3	52	590	9650	10220000	51,9	13,2
			<b>1,0</b>	<b>44,7</b>	<b>0,0</b>	<b>0,3</b>	<b>4,0</b>	<b>50,0</b>	<b>581,0</b>	<b>9717</b>	<b>10010000</b>	<b>51,1</b>	<b>14,8</b>
	4	IRN	1	16	0	0	7	76	268	3426	2750000	33,3	6,8
<b>INDUCCIÓN</b>	5	IRN	1	14	0	1	7	77	250	3831	2640000	30,4	5,3
	6	IRN	1	19	1	0	7	72	302	4031	2760000	29,5	6,9
°			<b>1,0</b>	<b>16,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>7,0</b>	<b>75,0</b>	<b>273,3</b>	<b>3763</b>	<b>2716667</b>	<b>31,1</b>	<b>6,3</b>

En la tabla 10, el grupo inducción muestra signos claros de anemia severa, con recuentos de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina mucho más bajos en comparación con el grupo control. Además, el sistema inmunológico del grupo inducción parece estar debilitado, con un recuento de leucocitos mucho más bajo y una cantidad significativamente menor de neutrófilos segmentados, lo que indica una menor capacidad de respuesta ante infecciones.

El recuento plaquetario reducido en el grupo inducción sugiere un riesgo de problemas de coagulación, lo que podría comprometer la capacidad de detener hemorragias en los sujetos inducidos. El aumento de monocitos y linfocitos en el grupo inducción podría indicar que, aunque el sistema inmune está comprometido, está intentando reaccionar ante el tratamiento o condición inducida.

En resumen, el grupo inducido presenta serios problemas hematológicos, incluyendo anemia, supresión inmunológica y un riesgo potencial de problemas de coagulación, en comparación con el grupo control que muestra parámetros mucho más estables y dentro de los rangos normales.

**Tabla 11***Datos hematológicos de las ratas pardas*

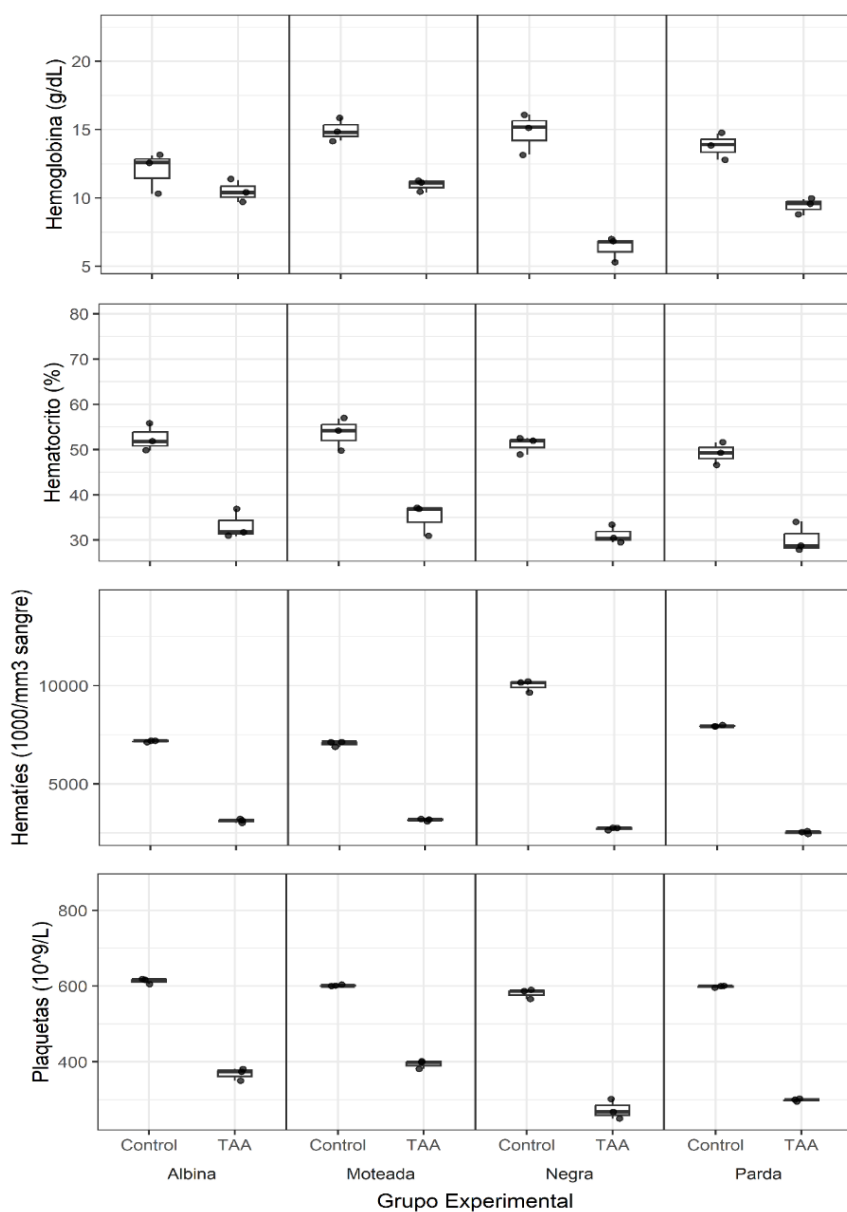
TAA- 290	N°	CODIGO	HEMATOLOGÍA										
			Hemograma							Recuento Leucocitario	Recuento Eritrocitario	Hct	Hgb
			Abs	Seg	Eos	Bas	Mon	Lin	Plt				
	1	CRP	1	50	0	0	9	40	600	7950	7930000	49,3	14,7
<b>CONTROL</b>	2	CRP	1	53	0	1	4	41	596	7850	8000000	46,7	13,9
	3	CRP	1	50	0	0	4	45	601	7650	7930000	51,6	12,8
			<b>1,0</b>	<b>51,0</b>	<b>0,0</b>	<b>0,3</b>	<b>5,7</b>	<b>42,0</b>	<b>599,0</b>	<b>7817</b>	<b>7953333</b>	<b>49,2</b>	<b>13,8</b>
	4	IRP	2	16	0	0	6	76	300	3380	2590000	27,9	9,9
<b>INDUCCIÓN</b>	5	IRP	1	14	0	1	7	77	295	3684	2440000	34,1	9,6
	6	IRP	2	19	1	0	6	72	303	3873	2540000	28,7	8,7
			<b>1,7</b>	<b>16,3</b>	<b>0,3</b>	<b>0,3</b>	<b>6,3</b>	<b>75,0</b>	<b>299,3</b>	<b>3646</b>	<b>2523333</b>	<b>30,2</b>	<b>9,4</b>

En la tabla 11, el grupo inducción muestra signos evidentes de anemia, con un recuento de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina mucho más bajos que el grupo control. Esto sugiere una reducción en la capacidad. El sistema inmune del grupo inducción está debilitado, con un recuento de leucocitos mucho más bajo y un porcentaje menor de neutrófilos segmentados, lo que indica una menor capacidad para combatir infecciones bacterianas.

El recuento de plaquetas reducido en el grupo inducción sugiere un riesgo de problemas de coagulación, lo que podría comprometer la capacidad de detener hemorragias. El aumento en los linfocitos y monocitos en el grupo inducción indica que, aunque el sistema inmune parece estar comprometido, está intentando responder al tratamiento o la inducción.

**Figura 16**

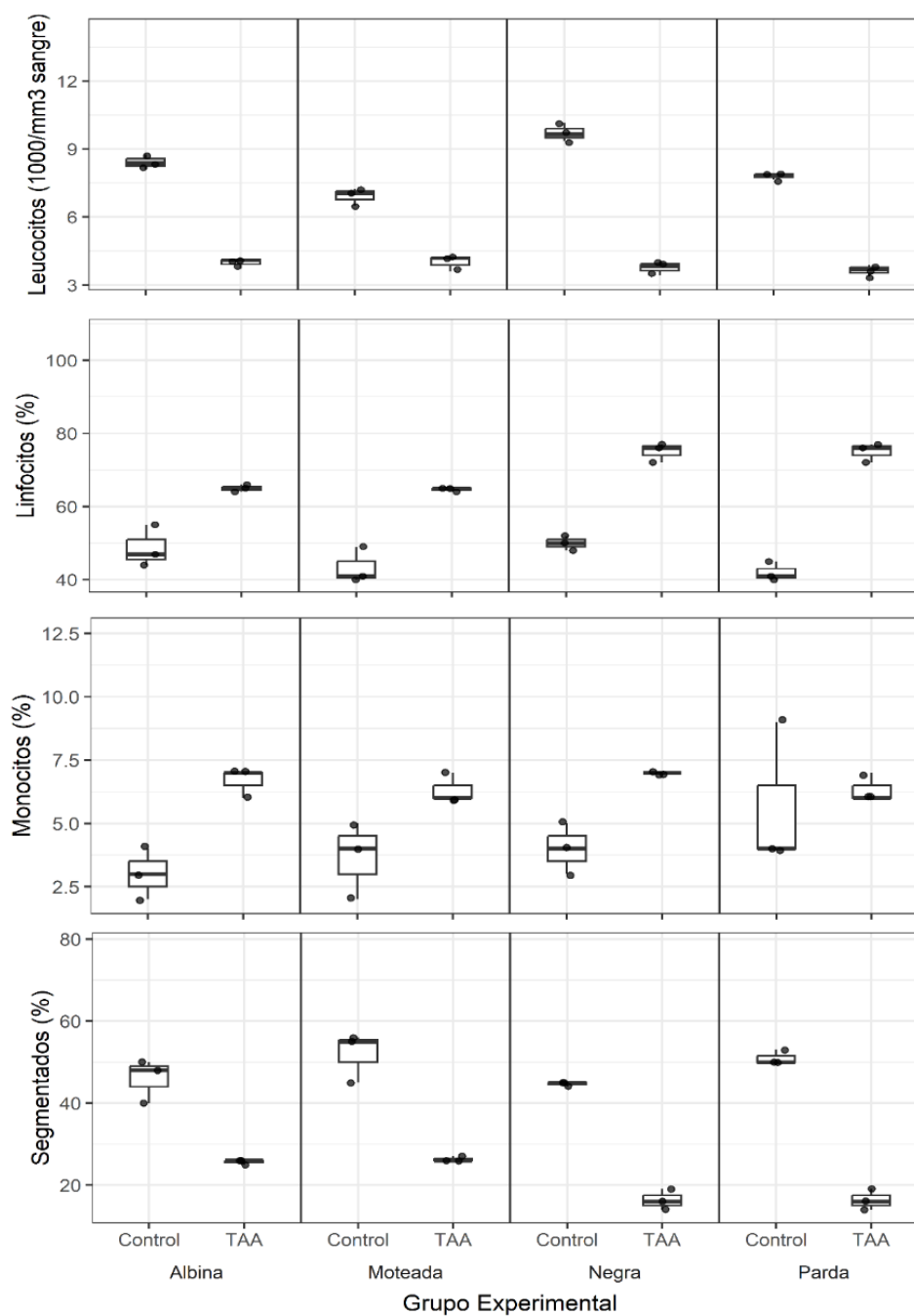
*Efecto de la TAA sobre los valores hematológicos*



En la figura 16, el efecto de la TAA sobre la hemoglobina, el hematocrito y el conteo de hematíes y plaquetas en las variantes de rata tratadas con una concentración de TAA que corresponde al valor de DT50 (rata albina: 250 mg/kg; rata moteada 250 mg/kg; rata negra: 270 mg/kg; rata parda: 290 mg/kg), cada punto experimental muestra el valor de la variable determinado para cada animal incluido en el ensayo (n=3).

**Figura 17**

*Efecto de la TAA sobre parámetros hematológicos en las variantes*



En la figura 17, el efecto de la TAA sobre el conteo leucocitario y de las series linfocítica, monocítica y segmentada en las variantes de rata tratadas con una concentración de TAA que corresponde al valor de DT50 (rata albina: 250 mg/kg; rata moteada 250 mg/kg; rata

negra: 270 mg/kg; rata parda: 290 mg/kg), cada punto experimental muestra el valor de la variable determinado para cada animal incluido en el ensayo (n=3).

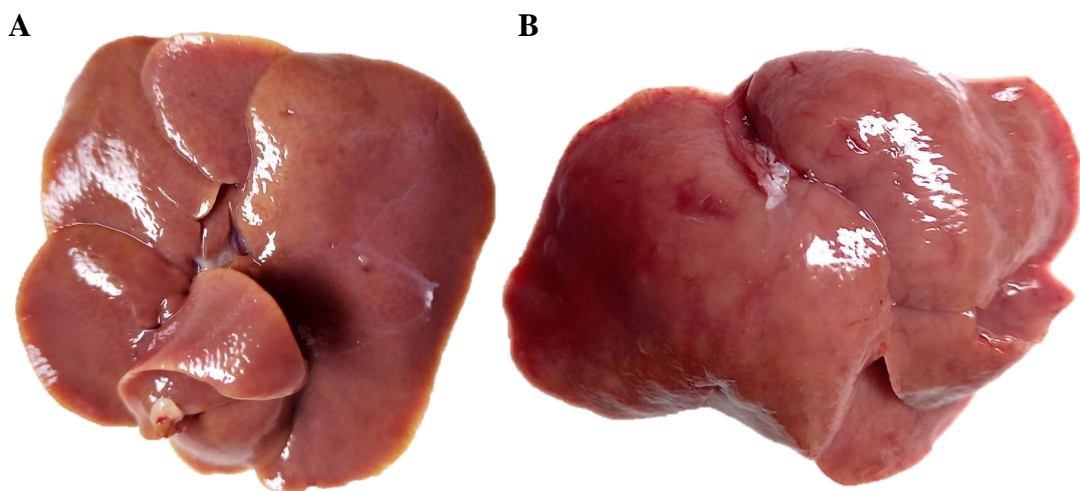
#### **4.3. Comparación de las características histológicas del tejido hepático de roedores sinantrópicos con las de roedores tradicionales tras la inducción de fibrosis hepática.**

##### **A) Comparación macroscópica del hígado**

El hígado sano muestra una estructura organizada y funcional. En contraste, un hígado fibrótico muestra alteraciones estructurales que comprometen gravemente su funcionalidad.

##### **Figura 18**

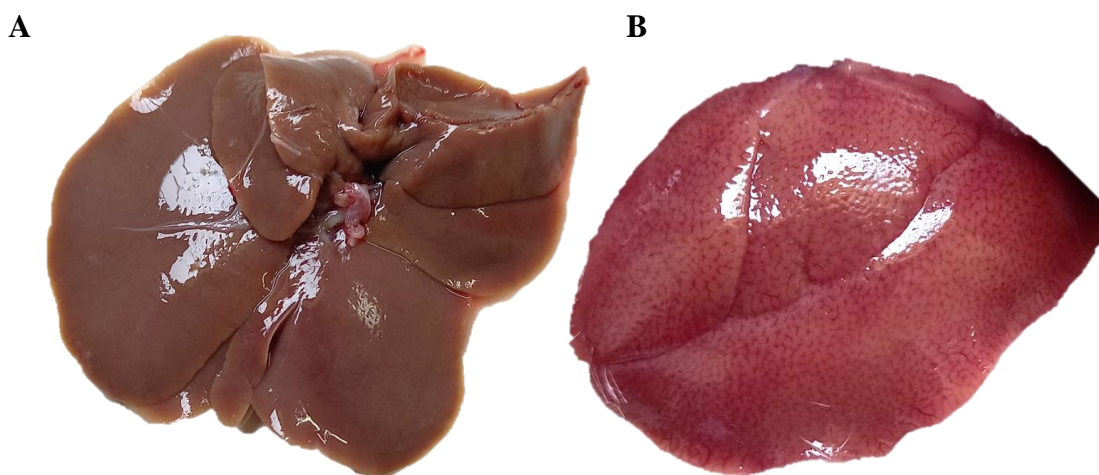
*Comparación macroscópica del hígado de la rata albina*



En la figura 18, se observan el hígado de los especímenes en experimentación. El hígado sano (A) y el hígado fibrótico (B), claramente se diferencian los hígados del grupo control y grupo experimental, inducidas con una concentración de 250mg/kg de TAA. En el hígado del grupo experimental (B), se evidencia cambios inflamatorios y alteraciones en la estructura y la morfología tisular, características típicas de la fibrosis hepática.

### **Figura 19**

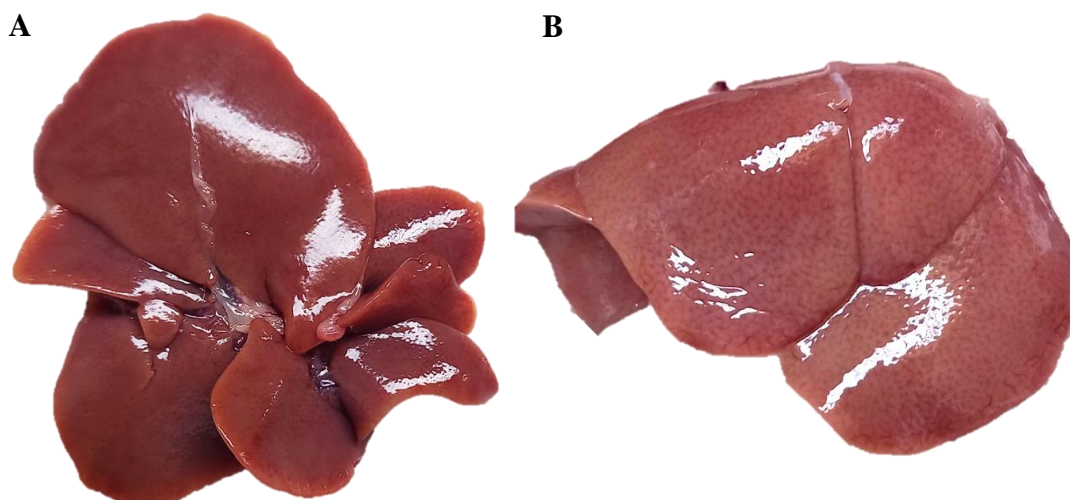
*Comparación macroscópica del hígado de la rata moteada*



En la figura 19, se analizaron los hígados de los especímenes sometidos a experimentación. Se observan diferencias claras entre el hígado sano (A) y el hígado fibrótico (B). Los hígados del grupo control, representados por el hígado sano, conservan una estructura y morfología normales, mientras que los del grupo experimental, tratados con una dosis de 250 mg/kg de TAA (tiacetamida), presentan alteraciones significativas.

### **Figura 20**

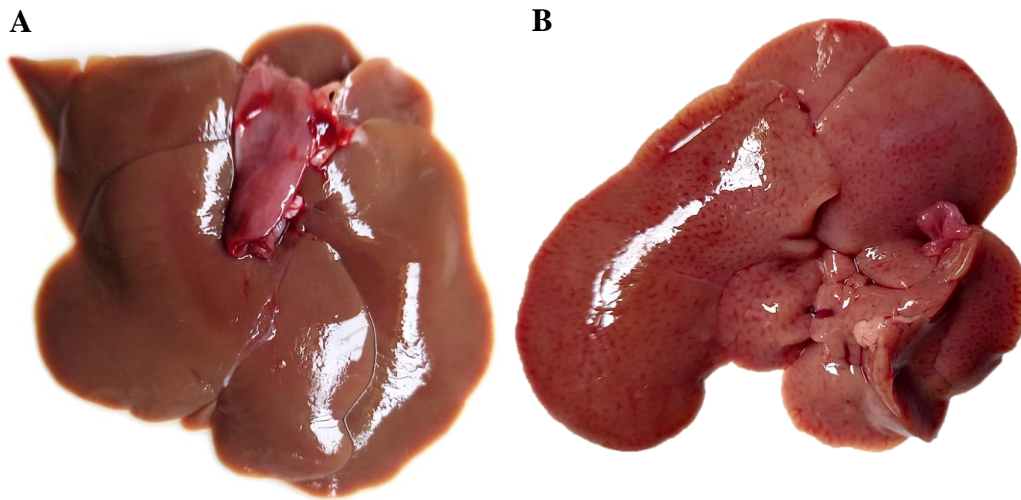
*Comparación macroscópica del hígado de la rata parda*



En la figura 20, los hígados pertenecientes al grupo control (A), el hígado sano, mantienen una estructura y morfología normales. En contraste, los hígados del grupo experimental (B), expuestos a una dosis de 290 mg/kg de TAA (thiocetamida), presentan alteraciones significativas.

### **Figura 21**

*Comparación macroscópica del hígado de la rata negra*



En la figura 21, se observan el hígado de los especímenes en experimentación. El hígado sano (A) y el hígado fibrótico (B), claramente se diferencian los hígados del grupo control y grupo experimental, inducidas con una concentración de 270mg/kg de TAA.

Los modelos experimentales expuestos a TAA, se observó un aumento en el tamaño y el volumen del hígado. La superficie hepática mostró áreas irregulares caracterizadas por hendiduras y surcos, atribuibles a la retracción y contracción del parénquima hepático como consecuencia de la formación de fibrosis hepática.

Además, la cápsula de Glisson, que envuelve al hígado, presentó múltiples áreas de necrosis coagulativa y hemorragias dispersas en el parénquima hepático. También se evidenció congestión vascular junto con zonas hemorrágicas. Asimismo, se identificaron áreas que sugieren acumulación de depósitos grasos o cambios esteatósicos en el tejido hepático.

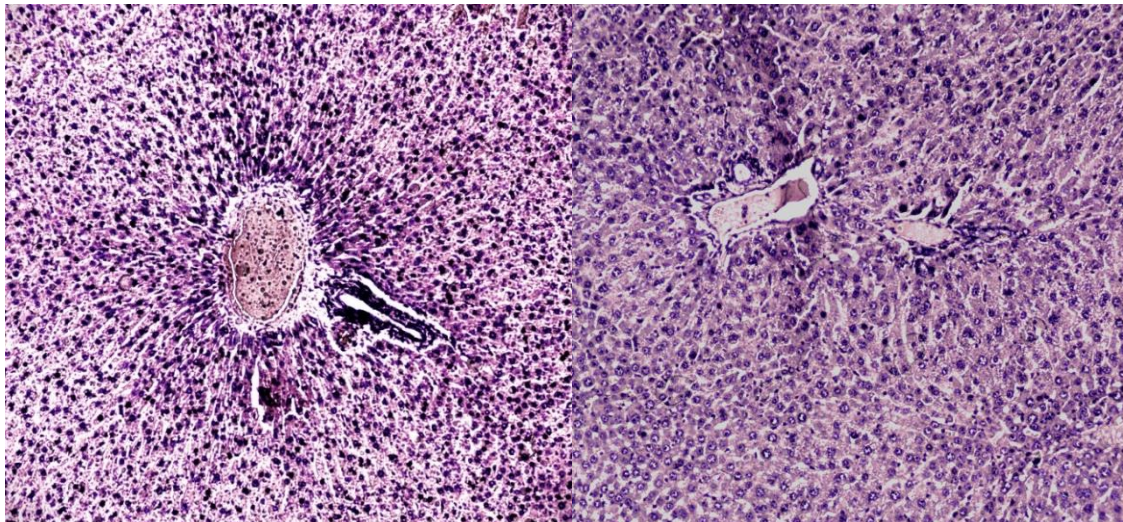
El órgano mostró una textura firme al tacto, lo que refleja el proceso inflamatorio y el desarrollo de tejido fibroso asociado a la fibrosis hepática.

### **B) Comparación microscópica del hígado**

La comparación histológica e histopatológica entre un hígado sano y uno fibrótico destaca el impacto crítico de la fibrosis hepática. En el hígado sano, la estructura lobular organizada, las sinusoides bien definidas y la matriz extracelular equilibrada aseguran una funcionalidad óptima. En contraste, el hígado fibrótico presenta desorganización estructural, formación de septos fibrosos, acumulación excesiva de colágeno, necrosis, inflamación y congestión vascular. Estas alteraciones comprometen severamente las funciones hepáticas esenciales y enfatizan la necesidad de prevenir y tratar oportunamente las condiciones que conducen a la fibrosis para evitar complicaciones graves como la cirrosis o insuficiencia hepática.

#### **Figura 22**

*Corte histológico del hígado sano (Grupo control)*



En la figura 22, se aprecia el patrón radial característico del lobulillo hepático, con un vaso central (vena central). A su alrededor se disponen los hepatocitos en cordones radiales,

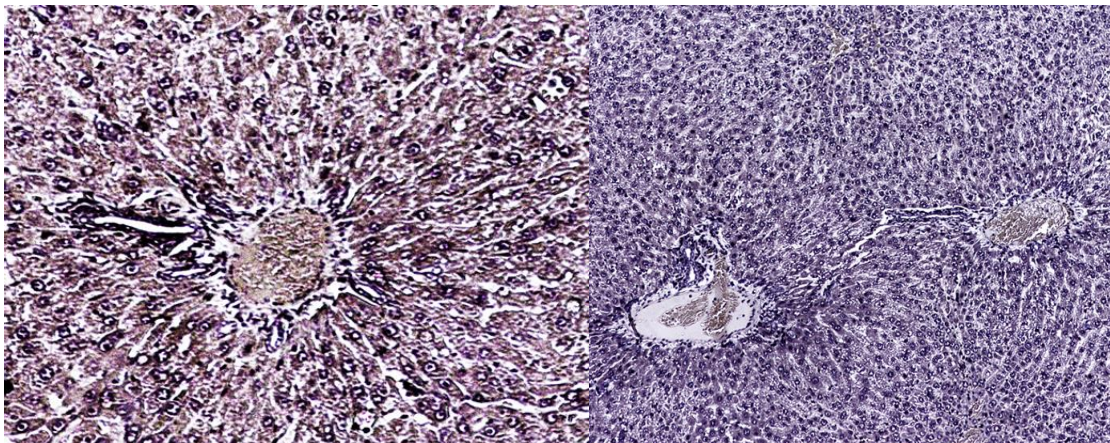
formando el aspecto clásico de los lobulillos hepáticos. Los hepatocitos, las células parenquimatosas principales del hígado, que se disponen en placas alrededor de la vena central. Se tiñen de manera eosinofílica (rosado claro) con núcleos basofílicos (morados oscuros).

Los espacios sinusoidales, entre los cordones de hepatocitos se pueden observar las sinusoides hepáticas, que permiten el paso de sangre desde las arteriolas hepáticas y las vénulas porta hacia la vena central. La vena central, se observa una estructura grande y vacía, que corresponde a la vena central, hacia la cual drenan las sinusoides. Este patrón es típico de un corte histológico de hígado sano, mostrando la organización en lobulillos hepáticos con hepatocitos radiados alrededor de la vena central y las sinusoides intercalados para el intercambio de sustancias.

### **Figura 23**

*Corte histológico del hígado fibrótico (Grupo experimental)*

*TAA – 24 semanas (Coloración H & E)*



En la figura 23, el material oscuro alrededor del centro parece ser tejido denso, tal vez tejido conectivo o fibras organizadas, mientras que los puntos más claros y oscuros en la periferia podrían corresponder a células o núcleos celulares tratados con una técnica especial. La imagen muestra un tejido teñido, probablemente un tejido biológico visto bajo un

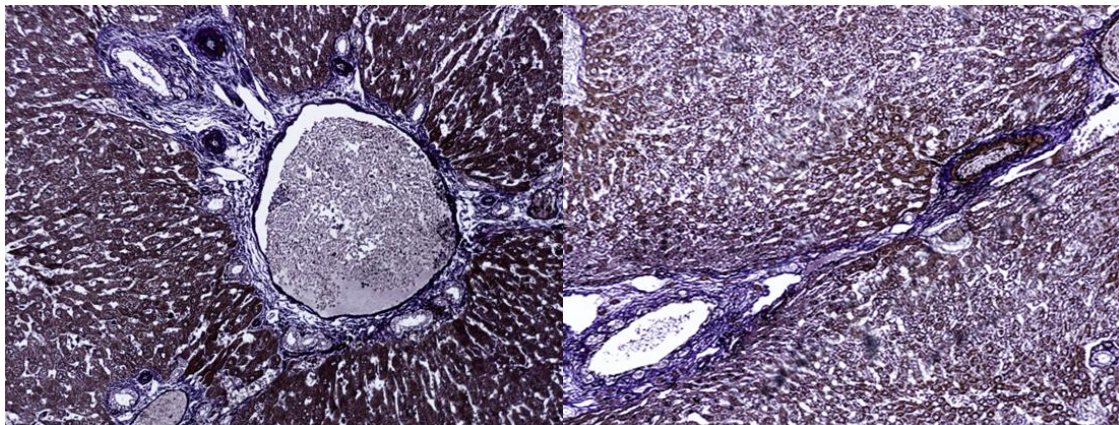
microscopio con técnicas de tinción histológica, como la hematoxilina y eosina (H&E), que son comunes en estudios de patología.

En este tipo de imágenes, se observan núcleos celulares teñidos de púrpura (lo que indicaría hematoxilina), que probablemente son células epiteliales o inmunológicas, dependiendo del tejido que se esté evaluando. La disposición de las células parece estar formando estructuras o lóbulos, lo que podría ser indicativo de un órgano específico, como el hígado, bazo o tejido linfático. Además, se ven áreas más claras, que podrían representar glándulas o conductos, y un patrón reticular o fibroso que podría indicar alguna patología o alteraciones del tejido normal.

#### **Figura 24**

*Corte histológico del hígado fibrótico (Grupo experimental)*

*TAA – 24 semanas (Coloración tricrómica de Masson)*



En la figura 24, de un corte histológico del tejido hepático, presenta una estructura central circular, posiblemente una glándula o un conducto, rodeado por una matriz de tejido denso. El área central está compuesta de una sustancia más homogénea, mientras que el tejido que la rodea muestra una disposición más fibrosa o celular, con ramificaciones que parecen extenderse hacia el exterior.

La imagen muestra una tinción histológica de tejido hepático, donde es visible una sección del hígado que parece estar afectada por fibrosis. La fibrosis hepática se caracteriza por la acumulación de tejido conectivo en el hígado, lo que se evidencia aquí por la presencia de áreas teñidas más oscuras (probablemente teñidas con tricrómica de Masson o una tinción similar) que destacan las fibras colágenas. En esta imagen, las regiones oscuras indican la presencia de fibrosis, específicamente en las áreas perisinusoidales y alrededor de estructuras vasculares. El tejido hepático muestra signos evidentes de daño crónico, donde el tejido fibroso reemplaza el tejido hepático funcional.

## CAPÍTULO V

### DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó la viabilidad de inducir fibrosis hepática en roedores sinantrópicos, los cuales, a diferencia de los roedores de laboratorio convencionales, presentan características fisiológicas adaptadas a entornos urbanos y periurbanos. Los resultados obtenidos muestran que estos roedores pueden desarrollar fibrosis hepática de manera efectiva tras la inducción experimental, lo que los posiciona como un modelo alternativo valioso para la investigación en hepatología y tóxica.

La fibrosis hepática inducida en los roedores sinantrópicos replicó de manera consistente las características histopatológicas observadas en otros modelos animales más utilizados, tales como la acumulación de colágeno, la activación de células estrelladas hepáticas y las alteraciones de la arquitectura tisular hepática, estudio realizado por Enciso et al., (2020). Se sugiere que estos roedores pueden servir como un modelo adecuado para estudiar los mecanismos subyacentes a la fibrosis hepática y su progresión hacia la cirrosis.

Uno de los principales beneficios observados en el uso de roedores sinantrópicos es su fácil disponibilidad y menor costo en comparación con especies de laboratorio criadas específicamente para estudios de hepatología. Además, estos animales están más expuestos a factores ambientales que podrían simular condiciones más realistas para estudios de toxicidad crónica o exposición ambiental prolongada a toxinas hepáticas. Esto representa una ventaja significativa para estudios epidemiológicos y toxicológicos en entornos urbanos.

A pesar de estos hallazgos positivos, algunas limitaciones fueron observadas en el presente estudio. La variabilidad individual en la respuesta a los inductores de fibrosis fue ligeramente mayor en los roedores sinantrópicos en comparación con las especies criadas en condiciones controladas de laboratorio. Este fenómeno podría estar relacionado con factores

genéticos y diversos ambientales, propios de los roedores sinantrópicos. Aunque esta variabilidad puede ser considerada una desventaja en términos de control experimental, también refleja una situación más cercana a la heterogeneidad observada en poblaciones humanas, lo que podría mejorar la aplicabilidad de los resultados en estudios traslacionales.

En el futuro será necesario realizar estudios adicionales para optimizar los protocolos de inducción de fibrosis en estos roedores, explorando diferentes dosis, duraciones y tipos de inductores, el estudio coincide con los estudios realizados por Arteaga (2018). Asimismo, la evaluación de la respuesta a tratamientos antifibróticos en este modelo experimental podría aportar información relevante para el desarrollo de nuevas terapias para la fibrosis hepática.

Los resultados del presente estudio demuestran que los roedores sinantrópicos pueden ser un modelo viable y efectivo para la investigación de la fibrosis hepática. Su accesibilidad, bajo costo y susceptibilidad a desarrollar fibrosis inducida los convierte en una alternativa prometedora a los modelos tradicionales en hepatología y toxicología, con el potencial de contribuir significativamente a la investigación de patologías hepáticas y a la evaluación de riesgos tóxicos ambientales.

## CONCLUSIONES

Se estableció que la dosis tóxica media (LD50) de Thioacetamida (TAA) en roedores sinantrópicos varía en relación con factores como la homeostasis y la especie. Los resultados muestran que las dosis más altas inducen mortalidad proporcional al nivel de daño hepático y sistémico. La exposición al TAA afectó significativamente los signos vitales de los roedores, incluyendo alteraciones en la frecuencia cardíaca, respiratoria y letargo generalizado, además de las afecciones en el plano morfométrico tales como las variaciones en el peso, confirmando la toxicidad sistémica del compuesto.

La exposición al TAA generó alteraciones significativas en los parámetros hematológicos, como una disminución en los niveles de hemoglobina y hematocrito, junto con un incremento en el recuento de leucocitos asociado a inflamación. En términos bioquímicos, se observó un aumento de las transaminasas hepáticas (ALT y AST), indicativo de daño hepático y una disminución de los niveles de albúmina, lo que refleja deterioro en la función hepática. Estos cambios fueron consistentes con las etapas iniciales y progresivas de la fibrosis hepática, validando la eficacia del modelo para evaluar esta condición.

Los análisis histológicos revelaron similitudes fundamentales en la respuesta hepática a la inducción de fibrosis entre los roedores sinantrópicos y los de laboratorio. Ambos grupos mostraron acumulación de colágeno, inflamación y necrosis celular. Sin embargo, los roedores sinantrópicos presentaron una respuesta más heterogénea, probablemente influenciada por factores ambientales y genéticos, mientras que los roedores de laboratorio mostraron una progresión más uniforme de la fibrosis. Estas diferencias resaltan la relevancia de los roedores sinantrópicos como modelos complementarios para el estudio de la fibrosis hepática en contextos más representativos de las condiciones humanas.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar comparando las respuestas de los roedores sinantrópicos con las de los roedores de laboratorio en diversas patologías hepáticas para determinar su utilidad específica en diferentes contextos biomédicos.
- Se sugiere comparar el efecto de thioacetamida (TAA) con otros agentes como el tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) o dietas específicas para validar la versatilidad del modelo.
- Se recomienda aprovechar la diversidad genética de los roedores sinantrópicos para investigar posibles mecanismos de resistencia o susceptibilidad a la fibrosis hepática, con potencial aplicación en medicina personalizada.
- Se recomienda garantizar que el uso de roedores sinantrópicos se ajuste a regulaciones éticas internacionales, minimizando el sufrimiento y optimizando el manejo animal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arteaga, I. (2018). *Detección precoz de fibrosis hepática en población adulta*. Barcelona.
- Coto H. (2015). Protocolos para la vigilancia y control de roedores sinantrópicos. 8-13.  
<https://iris.paho.org/handle/10665.2/50507>
- Dirven , B. B., Pérez, R., Cáceres, R. J., Tito, A. T., Gómez , R. K., & Ticona, A. (2018). *El desarrollo rural establecido en las áreas Vulnerables*. Lima: Colección Racso.
- Enciso B. N, Cisneros H. C, Rojas M. N, Nava C. E, Pando M. J, Dominguez F. F, & Enciso G. J. (2020). Células madre adiposas humanas disminuyen el daño de la fibrosis hepática con baja persistencia de células trasplantadas en ratas. *International Journal of Morphology*, 38(5), 1496-1507.
- Fausto N. (2004). *Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells*. *Hepatology* 39:1477-1487.
- Frevert U, Engelmann S, Zougbedé S, & Stange J. (2023). *Converted to SVG by Viacheslav Vtyurin who was hired to do so by User:Eug., CC BY 2.5*. Wikimedia Commons.
- Friedman S. L. (2003). *Liver fibrosis-from bench to bedside*. *Hepatology* 38:S38-S53.
- Gershbein, L. L, & Elias, H. (1954). Observations on the anatomy of the rat liver. *Anat. Rec*, 120:85-98.
- Grisham J. W, & Thorgeirsson S. S. (1997). *Stem cells*. London. Academic: In CS Potten.
- Haubrich W. S. (2004). *Kupffer of Kupffer cells*. *Gastroenterology*;127:16.
- Huchon D, Madsen O, Sibbald MJJB, Ament K, Stanhop M. J, & Catzeflis F. (2002). Rodent phylogeny and a timescale for the evolution of Glires: evidence from an extensive taxon sampling using three nuclear genes. *Mol Biol Evol*, 19(7): 1053-1065.
- Iredale, J. P, Benyon, R. C, & Pickering, J. (1998). Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J. Clin. Invest*, 102, 538–549.

- Kasper. (2005). *Medicina Interna Harrison. 16a edición*. 2:1992, 1993, 2046.
- Lee, U. E, & Friedman, S. F. (2011). Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol*, 25(2):195-206.
- Lefkowitz, J. H. (2007). Liver Biopsy Assessment in Chronic Hepatitis. *Arch. Med. Res*, 38, 634.
- Lorenti A. (2001). *Células progenitoras hepáticas*. *Medicina*. 61:614-620.
- Mac D. D. (2011). *The new encyclopedia of mammals*.
- Mark A. L, Sun Z, & Warren D. S. (2010). *Stem Cell Mobilization Is Life Saving in an Animal Model of Acute Liver Failure*. *Annals of Surgery* 252:4:591-596.
- Mederacke, I, Hsu, C. C, Troeger, J. S, Huebene P, Mu X, Dapito D. H, . . . Schwabe R. F. (2013). Fate tracing reveals hepatic stellate cells as dominant contributors to liver fibrosis independent of its aetiology. *Nat. Commun*, 4:2823.
- Mendez N, Pichardo R, & Almeda P. (2007). *Cirrosis hepática. Fisiopatología. Hepatología. Desde la Biología Molecular al Diagnóstico, Tratamiento y Prevención*. Ed. MacGrawHill. México, DF, 425-434pp.
- Möller B, & Vazquez O. (2011). Anatomía del hígado de la rata Wistar (*Rattus norvegicus*). *International Journal of Morphology*, 29(1), 76-79.
- Muriel. (2007). Some experimental models of liver damage. Hepatotoxicity. Saura C. Sahu. Ed. Jon Wiley and Sons, Ltd. Us Food and drug administration . *Laurel. MD USA*, 119-137.
- Nallagangula S. K, Venkataswamy L, Chandrappa M, & Nagaraj S. K. (2018). Liver fibrosis: a compilation on the biomarkers status and their significance during disease progression. *Future Sci. OA*, 4(1): FSO250.
- Palomo, L. J, Gisbert, J, & Blanco, J. C. (2007). *Atlas y libro rojo de los mamíferos terrestres de España*. Madris.

- Perez, H. R., & Stoeckle, H. J. (2016). Stuttering: clinical and research update. *Can. Fam. Physician*, 62(6):479-84.
- Reyes M. A. (2021). *Caracterización morfológica y de funciones metabólicas de hepatocitos primarios de hígado de rata cultivados en sustratos suaves. influencia de proteínas de la matriz extracelular y hormonas*. UNAM.
- Saldivar M. M. D. (2019). *Evaluar disminución de la fibrosis hepática en un modelo con cirrosis experimental mediante la movilización de célula madre hematopoyética endógena (HSC) inducida con factor estimulante de colonia de granulocitos (G-CSF)*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Sibulesky, L. (2013). *Anatomía normal del hígado*. Clin. Liver Dis. 2, S61S-S63S.
- Sica, A, Invernizzi, P, & Mantovani, A. (2014). Macrophage plasticity and polarization in liver homeostasis and pathology. *Hepatology*, 59(5):2034-42.
- Tovar, G. L. (1986). *El asentamiento y la segregación de los Blancos y Mestizos*. Bogotá: Cengage.
- Tutusaus A. L. (2018). *Identificación de Dianas terapéuticas en fibrosis hepática y cáncer*.
- Walayat, S, Martin, D, & Patel, J. (2017). Role of albumin in cirrhosis: from a hospitalist's perspective. *J Community Hosp Intern Med Perspect*, 7, 8-14.
- Zhao, Y. L, Zhu, R. T, & Sun, Y. L. (2016). *Epithelial-mesenchymal transition in liver fibrosis*. Biomedic Reports 4, 269–274.

## ANEXOS

### Anexo 1

Tioacetamida (TAA)



### Anexo 2

Preparación de las concentraciones de TAA



### Anexo 3

TAA en las diferentes concentraciones



### Anexo 4

Inducción de TAA



## Anexo 5

Inducción de TAA en rata parda (290mg/Kg).



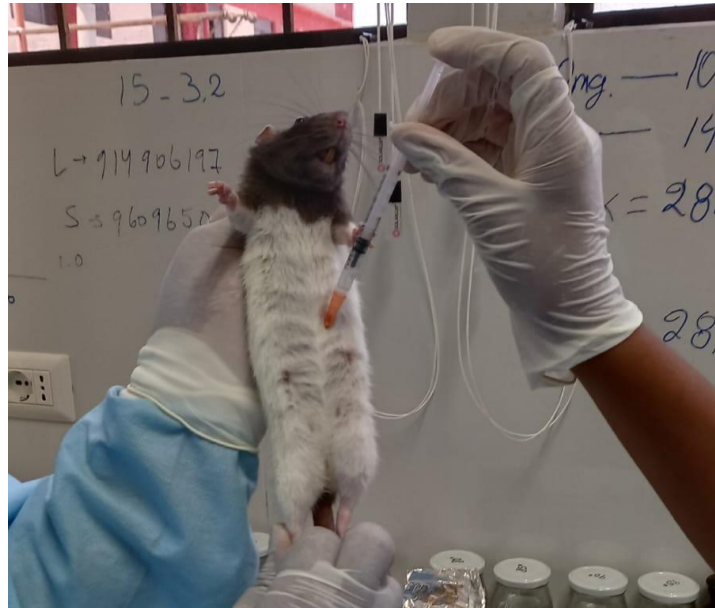
## Anexo 6

Inducción de TAA en rata negra (270mg/Kg)



## Anexo 7

Inducción de TAA en rata moteada (250mg/Kg)



## Anexo 8

Inducción de TAA en rata albina



## Anexo 9

Evaluación indirecta de ritmo cardiaco



## Anexo 10

Evaluación indirecta de ritmo respiratorio



## Anexo 11

Pesaje de masa corporal en ratas



## Anexo 12

Evaluación de signos vitales



### Anexo 13

Medición de signos vitales



### Anexo 14

Evaluación de signos vitales



# Anexo 15

## Data de los signos vitales de los roedores (albinas)

RATAS	TAA200				TAA210				TAA220				TAA230				TAA240				TAA250				TAA260				TAA270				TAA280				TAA290				TAA300				
	RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR						
	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	
A	1	85	91	245	265	89	94	251	255	94	96	256	258	103	98	262	265	103	107	274	277	126	135	292	289	49	51	98	92	47	48	91	90	42	44	84	85	39	41	72	70	38	36	56	54
A	2	75	88	250	263	86	94	255	252	95	105	255	259	104	94	266	264	100	121	275	274	137	134	301	288	50	51	99	92	46	49	91	85	39	45	84	86	38	40	71	70	41	34	61	51
A	3	80	85	253	269	83	96	249	257	96	98	254	256	99	93	263	262	106	106	275	274	127	137	295	292	50	57	99	89	45	47	95	93	43	46	87	89	41	44	76	71	41	39	51	53
A	4	74	89	249	268	89	87	252	253	94	98	259	260	102	96	261	258	103	103	271	267	127	135	289	285	55	52	104	95	47	48	96	88	45	40	87	80	43	40	70	42	37	42	58	56
A	5	72	90	247	269	91	91	253	251	98	94	252	260	113	95	265	270	105	111	270	275	129	138	284	287	45	48	101	98	52	46	87	87	41	45	80	79	34	36	69	76	34	35	53	53
A	6	70	91	241	265	89	88	249	255	94	93	252	251	98	95	262	260	105	105	271	272	129	136	295	287	47	62	94	91	49	48	84	89	47	46	82	88	36	47	72	72	32	36	60	61
A	7	78	91	245	265	91	90	255	254	96	92	262	256	96	96	257	269	102	109	272	282	129	133	286	288	47	50	100	95	38	47	89	90	42	48	85	82	44	42	72	67	34	37	56	52
A	8	82	92	245	265	86	90	257	256	93	94	260	251	101	100	261	265	104	102	270	276	129	142	291	284	50	58	97	92	42	47	88	95	38	42	85	83	40	37	74	72	39	38	51	51
A	9	82	97	242	263	83	91	253	257	97	94	264	260	99	94	263	264	110	110	275	275	131	139	292	286	49	46	98	97	49	47	94	91	46	46	80	80	30	37	47	40	36	36	54	54
A	10	78	92	240	261	83	90	255	252	92	92	253	257	102	104	266	262	106	106	274	279	137	128	290	291	42	45	100	93	49	46	89	88	43	37	86	85	40	36	69	62	35	37	53	60
A	11	88	90	245	265	87	95	254	253	97	97	252	264	98	98	262	267	107	103	278	288	128	135	294	293	52	58	95	94	47	52	88	93	40	41	81	84	38	44	76	71	38	34	56	55
A	12	81	89	244	265	84	84	255	255	90	99	261	255	101	99	263	265	107	106	274	284	125	137	291	291	42	51	100	95	45	48	87	91	41	42	82	86	40	40	69	69	38	34	54	60
A	13	82	82	249	265	80	80	247	254	89	93	255	259	110	96	253	267	113	113	274	278	130	140	291	288	45	50	92	91	52	47	91	88	43	40	77	79	43	41	69	71	40	39	59	55
A	14	81	88	244	265	85	86	257	256	95	95	257	258	105	106	267	267	104	106	265	278	122	140	290	283	49	55	97	95	48	52	97	90	37	42	89	82	41	41	67	66	39	40	55	58
A	15	80	77	246	262	83	89	250	259	94	93	255	259	100	99	259	267	109	112	275	275	129	136	289	289	51	51	100	94	45	48	88	86	46	47	83	87	37	44	69	68	37	38	54	61
A	16	78	89	248	266	89	90	251	258	94	97	252	253	107	103	267	264	107	113	276	278	128	134	292	287	50	49	97	87	44	47	88	89	42	43	96	86	30	44	73	34	34	62	57	
A	17	74	85	245	262	93	89	249	254	99	98	254	258	99	102	263	264	108	106	279	276	131	138	295	291	54	54	104	94	51	50	88	94	41	46	89	91	46	48	71	37	36	60	50	
A	18	72	82	246	262	83	89	250	259	94	93	255	259	100	99	259	267	109	112	275	275	129	136	289	289	51	50	100	94	45	51	89	87	42	43	84	84	39	38	75	71	40	32	55	55
A	19	78	87	249	269	83	90	248	257	96	92	260	248	105	98	262	263	111	105	269	275	126	140	296	292	47	50	95	98	48	43	89	87	41	43	83	82	37	38	70	71	42	34	52	56
A	20	83	86	242	265	79	93	254	250	94	90	257	260	105	92	262	265	109	107	275	283	121	136	294	288	44	48	107	91	50	55	95	93	51	41	85	80	43	36	73	63	37	32	52	48
A	21	82	83	245	262	88	88	257	261	92	98	258	254	108	103	266	264	103	107	270	276	121	140	290	293	46	48	101	90	37	48	86	83	39	38	84	91	39	39	73	71	34	34	50	57
A	22	78	82	243	264	86	89	252	253	99	98	258	257	108	98	262	275	104	100	274	276	122	136	289	289	49	47	96	96	49	44	92	90	42	44	84	88	38	41	66	70	39	35	56	54
A	23	78	82	244	269	82	88	247	262	92	95	259	258	104	99	262	267	101	111	276	274	127	136	289	287	45	53	99	90	46	51	93	92	39	41	83	87	35	41	65	37	35	61	54	
A	24	72	77	242	263	88	89	252	251	94	98	262	255	105	100	265	268	108	106	274	275	127	147	294	292	51	50	100	94	45	51	89	87	42	43	84	84	39	38	75	71	40	32	55	55
A	25	72	82	241	264	87	87	249	256	97	103	255	258	107	102	267	266	109	106	275	280	124	145	289	286	47	51	99	94	45	44	95	93	43	44	84	83	35	43	69	71	40	41	56	47
A	26	77	89	241	262	86	90	249	250	93	102	262	255	101	93	255	263	105	110	277	281	123	140	291	291	46	46	97	95	51	50	93	89	42	48	83	78	43	39	70	67	35	40	58	53
A	27	89	84	248	263	90	84	249	246	97	98	248	255	109	99	265	259	104	100	270	272	125	147	293	291	48	49	95	96	52	49	93	90	44	37	84	84	37	36	72	68	43	38	55	54
A	28	71	87	243	266	87	87	257	255	91	97	254	252	101	99	262	264	102	112	270	269	125	134	292	285	54	48	97	93	48	51	90	91	36	47	82	83	39	46	45	41	55	56	52	
A	29	81	88	246	264	79	84	246	257	97	93	254	260	109	99	261	264	100	112	277	274	132	139	287	286	50	49	97	89	53	50	91	88	36	49	86	83	36	37	75	72	38	27	54	55
A	30	78	85	246	258	85	89	250	253	94	95	254	262	96	99	260	264	104	109	273	271	128	140																						

# Anexo 17

## Data de los signos vitales de los roedores (negras)

RATAS	TAA200				TAA210				TAA220				TAA230				TAA240				TAA250				TAA260				TAA270				TAA280				TAA290				TAA300				
	RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR		RIT RESP		RIT CAR						
	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	RR1	RR2	RC1	RC2	
N	1	82	81	245	244	87	89	251	246	91	93	251	249	103	101	262	263	105	106	274	271	115	112	292	290	118	117	286	288	46	44	91	89	42	39	84	85	38	39	72	73	39	36	56	52
N	2	83	81	243	245	86	84	249	248	91	93	249	251	106	108	256	262	106	106	274	271	115	113	291	291	117	114	285	287	45	43	89	89	40	41	83	85	37	40	75	76	39	34	55	52
N	3	86	80	247	243	87	86	249	244	92	94	254	252	106	103	261	260	107	106	274	271	115	113	292	289	121	119	284	288	48	43	92	89	42	43	84	83	38	69	74	39	33	58	52	
N	4	86	78	245	245	88	86	253	247	94	92	251	249	101	105	264	260	104	111	273	272	113	110	294	289	117	125	288	287	47	46	92	90	43	41	86	84	41	37	72	37	35	56	53	
N	5	84	78	245	245	91	82	252	247	91	94	253	248	103	110	263	259	104	107	272	271	115	118	293	291	117	123	284	287	47	45	91	90	40	40	84	84	36	40	71	37	37	55	49	
N	6	85	79	248	245	88	85	250	245	93	92	249	248	99	107	259	259	106	107	275	271	115	112	292	289	118	113	282	287	44	42	89	90	40	40	86	86	35	41	72	76	38	35	54	53
N	7	83	80	243	243	87	84	252	245	92	91	252	250	104	107	262	259	104	107	274	268	109	116	293	289	121	123	283	290	47	46	91	92	39	39	83	83	38	37	73	73	39	36	56	50
N	8	85	80	244	245	89	86	253	245	91	93	251	247	107	106	261	261	104	104	276	269	111	112	292	288	113	114	284	288	49	43	90	89	41	35	84	88	39	41	73	36	34	55	53	
N	9	83	79	245	244	88	86	252	245	92	91	250	246	102	108	262	260	104	107	275	272	116	117	291	291	117	120	286	288	42	45	92	88	40	39	85	82	39	73	38	38	55	54		
N	10	84	82	246	241	88	84	251	247	91	92	251	251	101	114	263	262	106	105	276	272	101	114	291	288	125	117	287	288	45	44	91	88	40	39	83	84	38	38	74	73	37	37	58	53
N	11	83	78	246	243	87	85	250	248	92	94	251	252	103	110	263	262	106	106	278	271	112	115	293	292	122	117	285	286	47	43	91	90	42	38	83	84	38	72	38	37	58	53		
N	12	83	82	247	245	89	84	252	245	90	91	252	245	103	109	263	260	105	105	275	271	112	116	289	290	126	120	283	287	48	44	92	87	44	38	84	84	37	38	71	73	37	38	53	53
N	13	85	78	244	245	87	85	251	247	91	92	249	251	104	101	261	261	106	108	274	271	111	118	293	288	118	124	283	286	42	42	90	85	43	39	85	87	36	38	71	75	37	34	57	51
N	14	83	82	243	244	87	85	253	247	93	94	251	248	106	108	263	263	104	104	273	268	118	113	291	289	115	113	284	289	45	47	88	88	41	36	83	83	41	41	78	70	40	37	56	50
N	15	86	81	246	241	88	85	252	246	93	91	250	250	105	106	262	262	107	107	275	272	112	114	294	297	110	119	282	288	46	45	92	88	42	39	85	89	36	39	74	73	36	38	58	51
N	16	84	83	249	245	89	83	248	249	87	93	249	251	107	105	261	257	105	106	274	275	112	113	292	291	120	112	287	289	45	43	92	90	41	38	86	85	39	37	70	73	39	35	58	52
N	17	83	80	247	244	86	85	252	244	91	94	253	248	104	105	262	259	105	107	275	271	114	114	294	297	110	119	282	288	46	45	92	88	42	39	85	89	36	39	74	73	36	38	58	51
N	18	85	80	246	241	88	87	252	247	93	92	252	246	103	108	263	263	104	106	274	271	111	119	292	291	118	110	283	289	44	45	88	91	43	37	89	82	40	41	72	75	38	36	56	50
N	19	84	83	242	243	87	87	248	246	91	91	251	250	106	105	263	262	107	108	273	269	111	114	290	290	123	118	283	288	47	44	95	90	40	39	83	85	37	38	73	73	41	35	55	53
N	20	84	84	246	244	89	87	249	247	91	91	252	249	104	102	262	259	109	104	271	270	118	111	290	290	116	117	285	288	47	45	89	89	44	41	85	83	38	39	73	42	35	56	52	
N	21	83	84	242	246	88	85	245	245	89	93	253	245	108	110	264	264	106	106	275	267	120	120	292	288	126	116	287	289	47	42	90	89	43	39	82	86	40	39	72	74	37	38	55	52
N	22	82	82	245	244	86	85	249	246	91	94	252	248	104	107	263	258	104	106	272	271	116	117	291	288	116	115	286	290	48	44	88	91	42	43	84	86	37	40	71	78	35	38	57	51
N	23	81	81	246	241	86	85	249	246	92	92	254	248	107	106	263	260	108	108	276	272	108	114	291	290	120	123	284	287	46	46	90	92	43	40	81	94	39	39	72	78	40	34	56	50
N	24	83	81	246	241	89	83	252	248	92	92	251	249	104	103	262	260	104	107	275	271	117	118	293	290	117	115	285	292	48	45	89	89	44	38	83	87	38	38	72	73	37	37	56	49
N	25	86	78	243	245	87	82	251	247	91	91	253	251	105	104	260	259	104	108	273	271	119	110	291	291	117	123	287	288	47	43	90	88	43	42	84	86	39	39	70	78	38	30	56	51
N	26	84	81	246	247	89	84	249	247	94	94	252	250	106	104	263	260	107	107	276	270	121	114	292	292	122	117	286	288	47	44	89	89	41	39	85	85	37	41	73	73	37	38	56	51
N	27	85	81	246	244	90	87	250	245	93	95	252	245	104	106	261	263	103	106	274	270	111	121	293	289	117	118	286	289	47	41	92	88	42	41	83	85	40	40	71	70	37	35	55	50
N	28	84	80	244	244	89	83	250	245	90	92	249	249	104	111	260	261	104	110	274	269	110	110	291	291	120	122	289	289	49	45	89	88	39	40	84	85	39	71	71	74	39	35	57	52
N	29	82	79	245	244	86	85	250	249	90	92	249	249	102	105	263	260	107	110	276	269	108	116	293	289	127	112	284	287	46	44	92	90	45	39	84	83	40	41	72	70	38	35	55	53
N	30	83	83	242	249	89	85	249	249	89	89	250	249																																



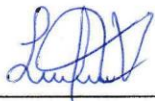
# Anexo 21

## Data del peso de las ratas (260 – 280)

SEMANAS	Nº 1	GRUPO VII (RATAS HEMBRAS)																GRUPO VIII (RATAS HEMBRAS)																GRUPO IX (RATAS HEMBRAS)															
		TAA 260																TAA 270																TAA 280															
		WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM	WP	WN	WA	WM								
1	1	313	278	268	274	320	277	265	285	314	276	270	280	312	289	285	282	315	271	289	272	310	274	296	278	320	291	273	288	316	291	278	283	324	295	272	280												
1	2	302	277	266	272	319	276	261	287	313	275	268	287	311	287	284	280	314	269	287	268	309	275	299	276	319	291	272	286	315	290	276	281	324	294	270	278												
1	3	302	276	264	270	318	275	261	287	312	273	266	285	310	286	282	280	313	267	285	268	308	274	291	274	318	292	270	284	314	288	274	281	323	293	268	276												
2	1	301	275	262	268	316	273	259	285	310	272	264	283	309	285	280	279	312	265	280	266	306	271	289	272	318	290	268	282	314	286	272	279	321	293	268	273												
2	2	299	273	260	266	316	272	257	282	308	272	262	280	308	285	278	278	312	263	276	264	305	270	287	268	317	287	268	282	312	283	270	277	319	290	265	270												
2	3	297	272	258	266	314	270	255	279	306	260	261	278	307	284	276	276	311	260	271	261	305	268	285	262	315	284	265	278	310	280	270	274	317	288	260	270												
3	1	296	270	258	263	312	268	253	276	304	267	260	276	306	283	273	274	310	258	261	251	303	266	286	265	313	286	263	275	308	277	267	270	315	285	265	269												
3	2	294	268	256	260	310	266	251	272	302	265	257	273	306	282	270	271	308	256	267	252	299	263	276	260	311	276	256	270	305	273	264	266	312	282	249	267												
3	3	292	267	253	267	308	264	251	269	302	263	255	270	305	280	267	266	309	254	265	247	295	260	271	257	309	273	259	265	302	270	260	264	309	278	243	265												
4	1	289	264	246	251	304	262	245	262	297	258	248	270	301	276	260	257	303	252	247	234	288	253	261	250	304	263	240	252	297	262	250	254	303	272	249	244												
4	2	287	260	242	248	301	260	242	258	295	255	245	267	298	274	258	252	301	250	240	237	286	252	256	245	302	262	234	246	293	262	244	248	307	262	252	240												
4	3	284	259	238	245	300	257	238	255	292	251	241	264	296	272	251	247	298	246	232	237	280	247	250	240	300	262	230	246	289	260	236	241	294	262	214	234												
5	1	283	256	234	241	300	254	234	251	289	248	237	260	294	270	246	243	295	242	224	211	278	243	241	234	297	245	234	228	285	255	233	236	290	257	207	229												
5	2	281	255	230	237	297	251	230	247	286	244	235	255	292	268	240	237	291	238	218	202	274	238	232	228	294	238	235	220	280	250	228	229	265	198	213													
5	3	278	253	226	231	294	248	226	243	281	241	230	250	291	266	234	232	289	236	210	194	270	235	228	222	290	230	213	216	274	244	222	229	255	190	217													
6	1	276	252	222	229	292	245	222	239	281	238	224	244	289	264	228	226	289	232	202	186	265	231	222	215	286	223	207	212	270	239	212	215	224	249	184	210												
6	2	274	248	217	224	289	241	229	234	280	236	221	237	287	260	220	219	288	228	198	189	261	226	218	208	283	236	202	204	266	233	205	208	244	180	202													
6	3	272	246	214	220	286	238	215	230	280	232	216	229	284	256	212	212	283	232	188	178	256	221	210	209	280	209	195	200	260	236	197	200	265	238	174	194												
7	1	270	244	210	216	281	235	211	224	277	229	212	221	281	251	204	204	286	218	181	170	254	217	202	201	277	202	195	187	264	220	189	182	263	211	184	187												
7	2	268	242	206	210	281	232	207	218	274	226	206	214	278	247	198	195	277	213	171	161	252	214	196	193	274	197	181	179	262	213	181	184	263	226	182	179												
7	3	266	240	200	203	281	229	203	212	271	221	198	207	276	242	188	190	274	208	169	150	252	210	190	195	270	195	175	172	252	207	183	180	260	220	148	171												
8	1	265	238	198	200	280	228	198	206	269	220	199	214	237	180	183	270	202	157	150	248	209	187	186	265	195	166	164	249	202	147	172	209	217	139	161													
8	2	263	235	188	188	277	213	193	199	265	216	182	191	271	230	172	174	267	190	149	145	244	197	178	179	263	193	157	156	239	196	137	164	199	111	105													
8	3	261	230	182	181	275	220	188	193	261	212	175	183	266	225	163	170	261	190	141	139	241	192	174	171	260	187	148	148	232	190	135	149	195	123	146													
9	1	261	228	175	173	273	217	182	186	258	208	168	176	262	222	155	162	259	184	133	132	237	186	174	163	257	186	140	139	226	183	122	147	162	116	138													
9	2	259	226	168	166	270	217	176	178	255	204	161	168	258	216	147	152	254	182	125	126	234	180	166	154	254	172	131	131	217	176	116	139	238	102	0	130												
9	3	258	223	161	158	267	215	169	170	252	200	153	161	254	210	139	145	248	180	118	120	230	175	161	145	251	165	122	123	210	169	0	132	211	187	0	122												
10	1	256	218	153	151	263	212	161	161	256	196	146	151	250	206	131	138	241	180	0	0	227	170	153	137	247	158	111	114	225	162	0	124	205	181	0	0												
10	2	253	212	145	144	261	209	153	153	244	192	139	145	246	200	123	131	239	176	0	0	224	164	144	126	244	150	0	0	195	155	0	0	220	175	0	0												
10	3	251	209	138	137	258	206	144	145	240	180	132	137	243	193	116	124	234	170	0	0	220	164	136	120	240	142	0	0	188	149	0	0	213	170	0	0												
11	1	250	209	129	131	255	203	136	137	239	186	126	129	240	190	0	0	228	164	0	0	216	157	0	0	236	134	0	0	189	142	0	0	207	162	0	0												
11	2	248	207	127	126	253	201	134	135	237	184	124	127	238	188	0	0	222	158	0	0	212	150	0	0	231	133	0	0	187	141	0	0	205	161	0	0												
11	3	246	206	121	124	252	200	138	139	235	180	118	120	236	185	0	0	222	158	0	0	211	153	0	0	232	126	0	0	173	136	0	0	205	154	0	0												
12	1	246	204	113	116	248	197	119	120	232	176	0	0	232	179	0	0	216	150	0	0	207	148	0	0	229	120	0	0	186	130	0	0	206	146	0	0												
12	2	244	202	0	0	244	193	0	0	234	172	0	0	229	166	0	0	212	143	0	0	205	145	0	0	227	112	0	0	188	123	0	0	190	138	0	0												
12	3	241	198	0	0	240	189	0	0	224	169	0	0	226	159	0	0	208	138	0	0	199	136	0	0	220	0	0	0	150	118	0	0	184	130	0	0												
13	1	240	190	0	0	241	187	0	0	223	168	0	0	225	158	0	0	207	136	0	0	198	135	0	0	219	0	0	0	149	117	0	0	183	129	0	0												
13	2	241	180	0	0	235	180	0	0	217	162	0	0	218	143	0	0	199	122	0	0	195	126	0	0	213	0	0	0	133	0	0	171	0	0	0													
13	3	239	175	0	0	232	174	0	0	214	158	0	0	213	136	0	0	195	116	0	0	187	110	0	0	207	0	0	0	129	0	0	145	0	0	0													
14	1	237	171	0	0	228	169	0	0	210	154	0	0	209	126	0	0	193	110	0	0	184	114	0	0	202	0	0	0	121	0	0	158	0	0	0													
14	2	235	169	0	0	226	166	0	0	210	15																																						



*Bach. L. Velasco L. / Asesor: V. H. Carbajal Z. / Bach. L. A. Valdivia Q.*



---

**TESISTA**

Bach. Lesly Adelis Valdivia Quispe



---

**ASESOR**

Blgo. Victor H. Carbajal Zegarra