

Interrupción de la conexión del puente tronco-encefálico con soluciones de bajo costo como método de eutanasia de roedores

Alvarez, C.M.; Ron, R.R.

Univ. Agr. Ecuador, Facult. Med. Vet. (Cát. Neuroanat., Clín., Cirug.), Guayaquil, Ecuador. Presentado al IX Congr. Intern. Med. Vet. Zoot. (Latacunga, Ecuador).
E-mail: calvarez@uagraría.edu.ec

Resumen

Alvarez, C.M.; Ron, R.R.: *Interrupción de la conexión del puente tronco-encefálico con soluciones de bajo costo como método de eutanasia de roedores.* Rev. Vet. 31: 2, 199-201, 2020. Se conoce que el puente tronco-encefálico es el conector entre el encéfalo y el cuerpo. Debido a ello, un traumatismo craneoencefálico cercano a la segunda porción del mismo, podría causar la interrupción de las conexiones neurológicas provocando hemiplejías alternadas o cruzadas, parálisis e insensibilidad. Al determinar esta interrupción en la comunicación, los órganos vitales se verían comprometidos en su función, provocando que el paciente sufra paro cardio-respiratorio y muerte. En el presente estudio se manipularon ratones de bioterio (*Mus musculus*) en un estudio que comprendió tres grupos; el primero fue la aplicación de lidocaína, el segundo agua destilada y el tercero fue un grupo testigo al cual se le realizó una punción simple sin la administración de ningún compuesto. Antes del procedimiento, los grupos 1 y 2 se colocaron en una cámara de sevoflurano para la sedación y posterior pesaje. Manualmente se palparon los cóndilos occipitales con los dedos anular e índice de la mano no dominante. La aplicación de la sustancia se efectuó con la mano dominante, corroborando que se estaba inoculando en la zona correcta. En el estudio, los roedores del primer grupo sufrieron una interrupción neurológica que les provocó un paro cardio-respiratorio (3 a 5 minutos post aplicación); en el segundo grupo sucedió lo mismo entre los 5 a 10 minutos posteriores; y en el tercer grupo no ocurrieron secuelas evidentes inmediatas.

Palabras clave: roedores, traumatismo craneoencefálico, lidocaína, interrupción neurológica.

Abstract

Alvarez, C.M.; Ron, R.R.: *Interruption of connection of the encephalic-truncus bridge with solutions of low cost like method for euthanasia of rodents.* Rev. Vet. 31: 2, 199-201, 2020. It is known that the brainstem bridge is the connector between the brain and the body, due to this a traumatic brain injury near the second portion of the brain could cause the interruption of neurological connections causing alternating or crossed hemiplegia, paralysis, insensitivity, so which, when determining this interruption in communication, the vital organs are compromised in their physiological function, causing the patient to suffer respiratory cardioarrest and death immediately. In the research study, bioterium animals were manipulated, in this case, they were mice of the *Mus musculus* species, the study comprised three groups; the first group was the application of lidocaine; the second group of distilled water and the third group was a control group where a simple puncture was performed with out the administration of any compound. Before the procedure, groups 1 and 2 were placed in the sevoflurane chamber for sedation and subsequent weighing, the occipital condyles were manually palpated with the ring finger and index finger with the non-dominant hand so that the application of the substance is done with the dominant hand and corroborate that it was being applied in the correct area. In the study, those of the first group suffered a neurological interruption that caused them to have a cardio-respiratory arrest between three to five minutes after application, in the second group the same thing happened, but between the next five to ten minutes; and in the third group they did not suffer immediate obvious sequelae.

Key words: rodents, cranio-encephalic traumatism, lidocaine, neurological interruption.

INTRODUCCIÓN

Una lesión en la porción del puente o protuberancia, puede afectar simultáneamente a las fibras eferentes del

nervio abducens y a los axones corticoespinales. Un paciente con lesión en esta zona, puede presentar hemiplejía alternante o cruzada, una parálisis del músculo recto lateral en el lado de la lesión y una parálisis de las extremidades torácicas y pélvicas, pérdida contralate-

ral del dolor y de la sensibilidad térmica de las mismas extremidades^{1,2}.

Por cercanía en cualquier trauma, la médula oblonga también se ve afectada ocasionando una hemiplejía contralateral, pérdida de la sensibilidad vibratoria, así como disfagia, nistagmo, vértigo y posteriormente la muerte^{1,2}.

En la unión bulboprotuberencial, pueden observarse cuatro nervios craneales: el abducens (VI), el facial (VII), el nervio vestibulococlear (VIII), y uno más rostral, el trigémino (V)^{3,4,5} por lo cual es un sitio importante, debido a las aferencias y eferencias corticoespirales y cerebelosas¹.

Estos nervios ingresan en la unión bulboprotuberencial lateral, proyectando hacia los cuatro núcleos vestibulares y cocleares. El núcleo espinal del trigémino contiene los cuerpos celulares de segundo orden para la sensibilidad de la cabeza^{1,10}, mientras que los tractos espinotalámicos, tractos trigeminotalámicos y el lemnisco medial atraviesan la protuberancia para alcanzar el tálamo (sensitivos).

Los tractos corticoespirales, corticobulbares y corticopontinos son netamente motores, por lo cual su traumatismo podría provocar una hemiplejía bilateral cruzada^{1,6,7}. Los otros tractos descendentes como el rubroespinal y tectoespinal, lo atraviesan en su camino hacia la médula espinal, por lo cual la administración de sustancias en esta zona provoca el bloqueo sensorial y motor, con eficiencia predecible.

La lidocaína es un anestésico local que bloquea los canales de sodio de las neuronas periféricas sensitivas^{2,6,7}; tal bloqueo de membrana celular impide el movimiento de iones de sodio y potasio a través de los receptores del nervio y, por lo tanto, la conducción nerviosa, suprimiendo los impulsos de los centros cardiorespiratorios, provocando apnea y paro miocárdico⁶.

En cambio, el agua destilada provoca lisis de las neuronas de los tractos axonales por ósmosis, aumentando el tamaño celular gracias al gradiente de concentración, lo que provocaría un resultado igual a la lidocaína al suprimir las conexiones bulboespirales y bulbotalámicas, por lo cual ambas sustancias pueden utilizarse en la eutanasia.

La eutanasia es un método para provocar la muerte de los animales, sin dolor, temor, ni ansiedad. En el Ecuador se están implementando normativas y leyes para amparar a los animales, y una de ellas es sin duda la eutanasia⁷.

Lamentablemente en nuestro medio el sacrificio a los animales ocurre de manera incorrecta produciendo el sufrimiento prolongado del animal y un impacto traumático al medio, debido a esa problemática diana como lo es la falta económica para proceder a una eutanasia por humanidad, sin ocasionar un sufrimiento prolongado de la mascota.

Así, se planteó una hipótesis para resolver estos conflictos con fármacos administrados de bajo costo y con el conocimiento dirigido, aplicados directamente en el puente tronco encefálico.

Para ello se pretendió demostrar la importancia fundamental de las conexiones nerviosas, los tractos bulbo-protuberanciales y los órganos vitales, mediante la implementación de técnicas de eutanasia utilizando sustancias de bajo costo, determinando el tiempo en que se presenta la apnea y el paro cardio-respiratorio, en cada sustancia^{6,7,8}.

Cumpliendo con las normativas internacionales para el manejo de animales de bioterio, esta investigación manipuló biomodelos para determinar el tiempo en que se produce el paro cardio-respiratorio con cada una de las sustancias administradas, estableciendo la interrupción del puente tronco-encefálico o protuberancia, aplicando sustancias de bajo costo como método de eutanasia^{9,10}.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratones biomodelos de dos semanas de edad, machos y hembras de la cepa CF1-H-273, con pesos comprendidos entre 25 y 30 g, adquiridos en el INSPI, bajo todas las medidas de calidad estandarizadas internacionalmente.

A su llegada a las instalaciones de la universidad, los biomodelos fueron agrupados según sexo y tamaño, otorgándole a cada uno un color para luego alojarlos en jaulas cronobiológicas, con techo de rejilla de acero inoxidable y base de *tamo de arroz* (residuo agrícola lignocelulósico), bajo condiciones de temperatura medioambiental.

El agua embotellada y el alimento comercial se les administró *ad libitum*, durante dos semanas para el proceso de adaptabilidad al nuevo alimento y aclimatación al entorno. Todas las experimentaciones se realizaron de acuerdo a niveles internacionales basados en las *Buenas Prácticas de Laboratorios* (BPL-OMS 1975 y Normas ISO 9000, 9001, 9002 y 9003).

Se anotaron registros con el peso inicial, reflejos de reacción, conformación corporal y pelaje, los cuales fueron constantes, ya que al ser adquiridos en un bioterio la población cumplía con todos los requerimientos que los investigadores necesitaban.

Se formaron tres grupos de 10 biomodelos cada uno, agrupándolos en jaulas de a cinco individuos, cada uno con un color diferente marcados en la base de la cola con pintura vegetal. En la tercera semana se preparó la cámara de sevoflurano, adaptando un tubo endotraqueal, aislándola con material impermeable y elástico para evitar pérdida del gas. Basándonos en la literatura estos biomodelos son resistentes a la hipoxia por lo cual fueron mantenidos en cámara por 30 minutos con una concentración del 1% de sevoflurano.

Se procedió al pesaje de cada animal y al primer grupo se le administró hidrocloreuro de lidocaína al 2% sin epinefrina. Posteriormente con ayuda de un temporizador se determinó la hora de la muerte, que ocurrió entre los 3 a 5 minutos post-aplicación. El segundo grupo se maniobró de igual manera (sedación, pesaje y ad-

ministración de agua destilada), arrojando resultados entre 5 y 10 minutos.

La zona de aplicación de las sustancias fue intratecal: con los dedos índice y anular se determinaron manualmente los cóndilos del occipital, dejando caer el dedo medio en la zona correcta. Esta maniobra se realizó con la mano no dominante, mientras que con la dominante se introdujo la jeringa con 0,5 ml de la sustancia antes mencionada.

Los del tercer grupo recibieron una punción con aguja fina en la misma zona. Estos roedores no presentaron daños neuro-encefálicos evidentes de forma inmediata. En los días 2, 3 y 4 se registró claudicación y letargia en los individuos de menor peso, de forma reversible a partir del quinto día. Los cadáveres fueron tratados al finalizar el estudio, según protocolo de manipulación de residuos biológicos de la Gestión Ambiental de Residuos⁷.

RESULTADOS

En el primer grupo de estudio, a los roedores que se les aplicó hidrocloreto de lidocaína al 2%, el individuo de mayor peso obtuvo una respuesta tardía que generó un paro cardio-respiratorio a los 7 minutos, los demás individuos del grupo, en los primeros 3 minutos presentaron una leve bradicardia y paraplejia junto con una posterior apnea y consecuentemente un paro cardíaco a los 5 minutos.

A los del segundo grupo se les aplicó agua destilada, observándose resultados en un tiempo más prolongado, entre 7 y 9 minutos. Por último, en el tercer grupo, a los que se les realizó la punción con aguja fina, los resultados indicaron que éste no es un método eficiente para realizar eutanasia, ya que no genera ningún daño ni bloqueo de las transmisiones nerviosas en el puente o tuberosidad.

La observación evidenció una hemiplejia reversible, afirmando que con las agujas se puede generar un bloqueo en el nervio abducens, pero no un bloqueo total de las comunicaciones o tractos eferentes hacia la médula espinal, como son los corticoespinales, rubroespinal y tracto tectoespinal.

DISCUSIÓN

Se ha comprobado que la administración de sustancias en el puente tronco-encefálico produce un bloqueo de las sinapsis neuronales provocando apnea y por consecuencia una atonía cardíaca.

Así, se demostró que el uso tanto de lidocaína como de agua destilada, tiene como resultado una eutanasia indolora y de bajo costo, ya que bloquea los núcleos res-

piratorios y cardíacos encontrados en el puente tronco-encefálico produciendo parálisis de los músculos liso y esquelético.

Por consecuencia se provoca una falta de oxigenación y falla del nódulo sinusal del corazón, por lo cual no se efectuarán los impulsos eléctricos necesarios para bombear la sangre y realizar la circulación mayor y menor del cuerpo, infartando a todos los órganos vitales del paciente, provocándole la muerte.

Debido a los resultados obtenidos se podría concluir que tanto la lidocaína como el agua destilada administradas en el puente tronco-encefálico, actúan de manera distinta, pero ambas producirán un trauma grave provocando la obstrucción del sistema nervioso central, interrumpiendo las conexiones eferentes y aferentes, e impidiendo que se efectúen las comunicaciones neuronales.

Por esta razón los nervios sensitivos y motores se encontrarán inhibidos, generándose no solamente una parálisis de los órganos vitales, sino también una insensibilidad al dolor, comprobándose que en un transcurso no mayor de diez minutos se puede efectuar eutanasia con cualquiera de estas sustancias.

REFERENCIAS

1. **Champney T.** 2017. *Neuroanatomía clínica esencial*, 1º ed., Edit. Panamericana, México, 311 p.
2. **Cuesta G.F.** 2003. *Patología veterinaria*, 1º ed., Edit. Universidad de Antioquia, Medellín, 622 p.
3. **Feliu P, Luján A.** 2007. *Trauma craneal*. On line: <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpe-qani/11307064v27n3/11307064v27n3p197.pdf>.
4. **Fernández VL, Bernardini M.** 2007. *Neurología del perro y el gato*, Ed. Intermédica, Buenos Aires, 432 p.
5. **García A, García L.** 2016. *Ética de la experimentación con animales. Bioética y Ciencias de la Salud*. Vol. 3, N° 4, págs. 1-11.
6. **González EM.** 2014. *Traumatismo craneoencefálico y hemofiltración venovenosa continua. Modelo experimental en conejos*. On line: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=71509>.
7. **Gutiérrez AC.** 2016. *Biomodelos*. Universidad Autónoma del Estado de México. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/64140/secme3126.pdf;jsessionid=FC3DC3F877719F33EB1321EBA3322FF0?sequence=1>.
8. **Haines D.E.** 2014. *Neuroanatomía clínica (Texto y Atlas)*, 9º ed., Wolters Kluwer Ed., Barcelona, 346 p.
9. **Maurice V, Ropper AH.** 2002. *Principios de neurología*, 6º ed., McGraw Hill – Interamericana, México, 1577 p.
10. **Snell RS.** 2010. *Neuroanatomía clínica*. Editorial Wolters Kluwer, Barcelona, 7º ed., 542 p.