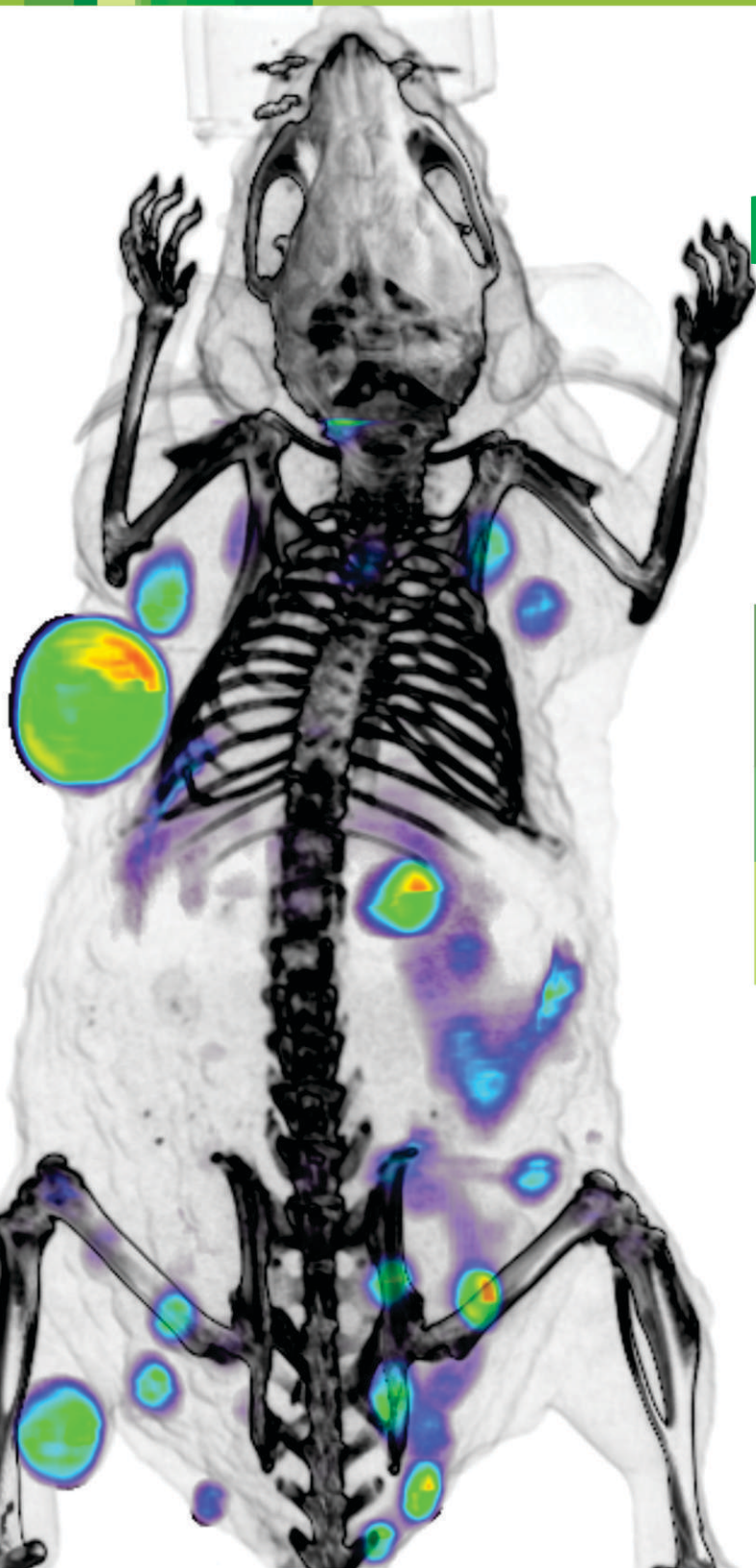


REVISTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO

ANIMALES DE LABORATORIO

Otoño 2015. Número 67

IMÁGENES DIAGNÓSTICAS



La técnica del acceso vascular
eco-guiado como refinamiento en
la cirugía experimental en el modelo
porcino u ovino

Imagen ecográfica
en investigación oncológica

Fenotipo de los nemátodos
intestinales en ratón

Entrevista: Sergi Vila Bellmunt

Centrados en su investigación.

Como proveedor global de modelos de alta calidad de investigación, dietas y servicios de asistencia, Harlan Laboratories ha demostrado su rendimiento con equipos de investigación en todo el mundo. Nuestra misión es la de ayudarle a mejorar sus investigaciones.

Para más información, visite nuestra Web www.harlan.com o contacte con nosotros en rms.es@harlan.com

Modelos

Dietas

Servicios



Grupo Editor



REVISTA DE LA SOCIEDAD

ESPAÑOLA PARA LAS
CIENCIAS DEL ANIMAL
DE LABORATORIO
www.secal.es

DIRECTORA

Teresa Rodrigo Calduch
direccion.revista@secal.es

SUBDIRECTOR

Hernán Serna Duque
direccion.revista@secal.es

EDITORES DE ESTILO E IMAGEN

Olga Fernández Rodríguez
Juan de Dios Hourcade Bueno
Lara Sedó Cabezón

PUBLICIDAD

Amaia Enbeita
publicidad.revista@secal.es

FOTO DE PORTADA

Francisca Mulero

DISEÑO Y MAQUETACIÓN

CONEXION E.P.
clientes@agenciaconexion.com.co

IMPRIME

LCS REPROGRAF

DEPÓSITO LEGAL
M-1362-1999

Responsables Secciones



**NOTICIAS SECAL
ACTUALIDAD**
Cristina Gerbolés Freixas
kgerboles@gmail.com



TÉCNICAS
María Granada Picazo
mgpicazo@sescam.jccm.es



**ÉTICA Y LEGISLACIÓN
SEGURIDAD EN 5 MINUTOS**
Jesús Martínez Palacio
jesus.martinez@ciemat.es



¿Y TÚ QUÉ OPINAS?
José Luis Martín Barrasa
jimbarrasa@gmail.com



LIBROS Y PÁGINAS WEB
Sergi Vila Bellmunt
sergivilab@gmail.com



FACTOR HUMANO
Javier Fidalgo Fernández
fidalgo@ocelata.com



AL CUIDADO
Paloma García Potrero
pgarcia@srv.cnio.es



PANORAMA
Luis Muñoz de la Pascua
imp@usal.es



CONTROL SANITARIO
Sara Capdevila i Larrripa
scapdevila@prbb.org

Junta de Gobierno

PRESIDENCIA

Javier Guillén Izco (2011-2015)

VICEPRESIDENCIA

Antonio Martínez Escandell (2013-2017)

SECRETARÍA

Elena Ciordia Balduz (2011-2015)

VICESECRETARÍA

Angel Naranjo Pino (2013-2017)

TESORERÍA

Isabel Blanco Gutiérrez (2011-2015)

VICETESORERÍA

Carlota Largo Aramburu (2013-2017)

VOCALÍAS

Rosa Bonavía Abril (2011-2015)
Juan de Dios Hourcade Bueno (2013-2017)
Leticia Martínez Caro (2011-2015)
NorayBio (2013-2017)
Luis Parra García (2011-2015)
Anna Puyol Altarriba (2011-2015)
María Reyes Panadero (2013-2017)
Juan Rodríguez Cuesta (2013-2017)

SOCIOS BENEFACTORES:

CHARLES RIVER LABORATORIES ESPAÑA, S.A.
PANLAB S.L.U.
HARLAN LABORATORIES MODELS, S.L.
GRANJAS SAN BERNARDO
CENTRE D'ELEVAGE R.JANVIER
BIOSIS
STERIS IBERIA, S.A.
SOURALIT
DINOX SL
ANADE
GLAXOSMITHKLINE INV. Y DESARROLLO, S.L.
VESTILAB C.R.C., S.L.U.
NORAY BIOINFORMATICS, S.L.U.
ANTONIO MATACHANA S.A.
STERILTECH, S.L.
ESTUDIO TÉCNICO Y CONTROL ANALÍTICO, S.L.
DYNAMIMED, S.L.
RETTENMAIER IBERICA, S.L. Y CIA SCOM
VIVOTECNIA
BIOSCAPE GmbH
ANIMALARIA FyG, S.L.
SODISPAN RESEARCH, S.L.
IZASA, S.A.
COL.OFI. DE VETERINARIOS DE CADIZ
TEMINOX C.B.

Organizamos los cursos
(semipresencial y online)
que necesite su institución.

Matrícula reducida para
alumnos de su institución
y socios de SECAL.

*Una formación de calidad
para una investigación de
calidad*

*Su bienestar es nuestro
bienestar*

SECAL sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Con la colaboración de SECAL



Animalaria

Formación y Gestión S.L.

www.animalaria.org Tel.699921930

INDICE

EDITORIAL

8 ACTUALIDAD

- La investigación científica con perros desata la polémica en Europa.
- La UE rechaza la petición ciudadana de prohibir la experimentación animal.
- Un fármaco derivado del cannabis ralentiza el Alzheimer en ratones.
- Secaleros por el mundo: Yolanda Saavedra Torres.

13 ARTÍCULOS

- Imagen ecográfica en investigación oncológica.
- Imagen en animal de laboratorio con microTomografía Computerizada (TC) y Densitometría.
- Imagen óptica en animales de laboratorio.
- Imagen por tomografía de emisión de positrones (PET) en animal de laboratorio.

37 TÉCNICAS

- La técnica del acceso vascular eco-guiado como refinamiento en la cirugía experimental en el modelo porcino u ovino.

43 PANORAMA

- Aplicaciones del Peróxido de Hidrógeno en Fase de Vapor (VHP) en los Laboratorios de Seguridad Biológica.

48 FACTOR HUMANO

- Vendo, luego soy.

52 ALCUIDADO

- Cuidando de la investigación.

56 SEGURIDAD EN 5 MINUTOS

- Para que una persona trabaje con seguridad hacen falta tres condiciones. Las tres son necesarias, pero ninguna es suficiente....

58 CONTROLES SANITARIOS

- Fenotipo de los nemátodos intestinales en ratón.

60 LIBROS Y PÁGINAS WEB

- Recursos sobre transgénesis y fenotipado de ratón en internet.

63 ¿Y TÚ QUÉ OPINAS?

- Diagnóstico "estallado".

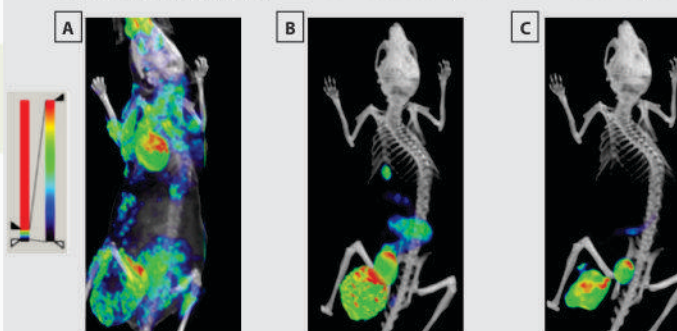
67 ENTREVISTA

- Sergi Vila Bellmunt.

69 CRUSECAL

31

F18-FDG marcador metabólico F18-MISO marcador de hipoxia F18-FLT marcador de proliferación



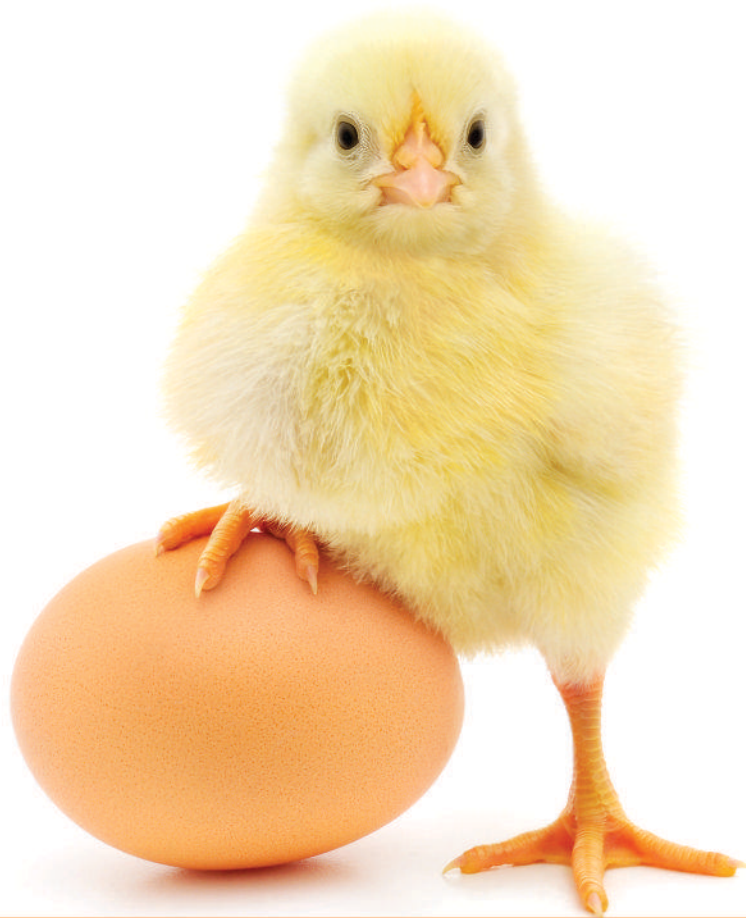


Foto: shutterstock

Un modelo al lado de los humanos

ESTE POLLITO NOS HA AYUDADO A AUMENTAR LA ESPERANZA DE VIDA DE LOS BEBÉS PREMATUROS

El avance de la medicina perinatal ha mejorado la supervivencia de los bebés prematuros, creando así un nuevo y heterogéneo grupo de pacientes que nos aportan información limitada sobre los protocolos terapéuticos apropiados. El desarrollo del feto y el recién nacido han sido tradicionalmente un problema significativo en los estudios de seguridad de los medicamentos.

Hay un consenso sobre la inclusión de los recién nacidos en los ensayos clínicos, pero antes deben realizarse estudios de farmacología sobre los principales órganos y sistemas: cardiovascular, respiratorio y el sistema nervioso central. El embrión y el feto de pollo tienen características que los convierten en un modelo animal conveniente para este tipo de estudios de seguridad preclínicos, en los que se pueden probar los efectos sobre el conjunto de sistemas y órganos.

EDITORIAL

Imágenes diagnósticas

Muchos métodos tradicionales de investigación en modelos animales implican la manipulación invasiva y la restricción del animal, seguido por el muestreo y la medición de fluidos y tejidos corporales. Sin embargo, actualmente existen técnicas de imagen que proporcionan imágenes de los sistemas del cuerpo (por ejemplo, órganos, tumores y vías moleculares) y que pueden utilizarse como alternativas, incluso en animales pequeños como los roedores.

La posibilidad de visualizar y cuantificar la función de un determinado órgano en animales de laboratorio es una herramienta científica de gran importancia en el estudio de modelos de enfermedades humanas, en el descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos y en la caracterización del fenotipo de animales transgénicos.

Además, las técnicas de imagen contribuyen a las alternativas de reducción y reemplazo. En cuanto a la reducción, las técnicas de imagen permiten estudios longitudinales en el mismo animal, reduciendo la variabilidad estadística entre sujetos y por lo tanto, el número total de animales necesarios para alcanzar significación estadística. En cuanto al refinamiento, las técnicas de imagen suponen una forma no invasiva e indolora de visualizar los tejidos y órganos del cuerpo de manera que puedan identificarse las anomalías y permiten el uso de puntos finales anteriores.

En este número encontraréis una serie de artículos en los que se presentan distintas técnicas de imagen y su aplicabilidad en el campo de la experimentación animal. Agradecer a Francisca Mulero la coordinación de los artículos de este número, en los que queda patente lo prometedoras que son las técnicas de imagen en el ámbito de la experimentación animal.

Dirección Revista SECAL

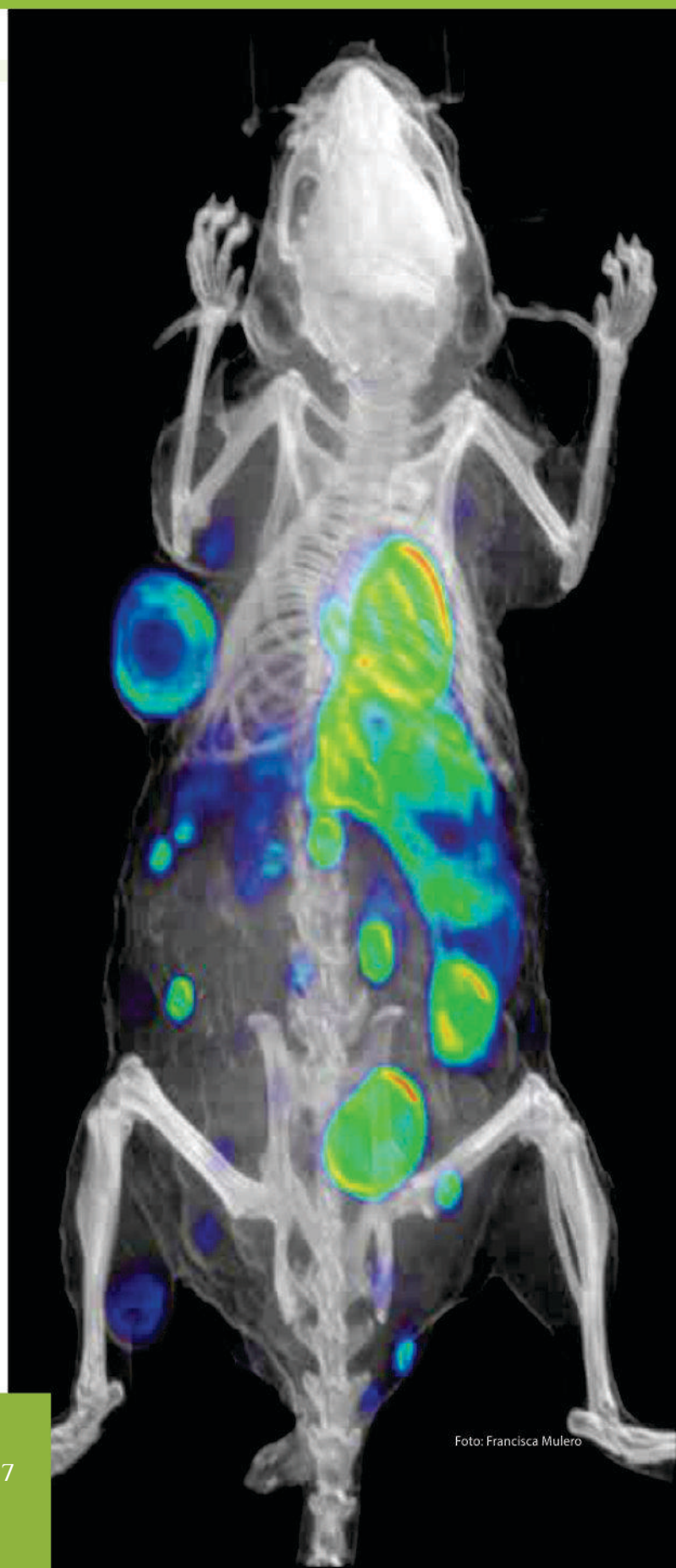


Foto: Francisca Mulero

La investigación científica con perros desata la polémica en Europa

La ampliación de unas instalaciones para perros de experimentación en Reino Unido ha resucitado el debate sobre una de las prácticas científicas más polémicas: la investigación con animales de compañía. El Gobierno británico dio luz verde el 15 de julio a la construcción de naves para criar perros de laboratorio en la sede de la empresa B&K Universal en Grimston, después de que las autoridades locales la hubieran denegado. Para la organización animalista PETA, el Gobierno "abandona a los perros" con esta decisión "cruel".

Sin embargo, la comunidad científica ha celebrado la decisión gubernamental. "Son buenas noticias", ha afirmado Kirk Leech, director ejecutivo de la Asociación Europea de Investigación Animal. Esta decisión asegura la continuidad en Reino Unido de importantes investigaciones médicas para el desarrollo de nuevos fármacos y tratamientos, tanto para personas como para animales. Leech recuerda que "los laboratorios británicos requieren muy pocos perros cada año y que con ellos se han conseguido históricamente importantes avances, como el descubrimiento de la insulina para tratar a pacientes diabéticos y el desarrollo de marcapasos y de los procedimientos para hacer transfusiones de sangre".

« Los laboratorios y universidades demandan cada año menos perros. En España, el número se ha reducido un 38% desde 2011 »

Los perros son especialmente apreciados en estudios del sistema cardiovascular, debido a las similitudes en estructura y tamaño entre su corazón y el humano. Los canes también se solicitan en pruebas de toxicidad de nuevos fármacos.

"A nadie le gusta la idea de utilizar perros para la investigación médica, y todo el mundo anhela que se encuentren alternativas para que nunca más haya que emplearlos. Pero por el momento, la investigación médica y las pruebas de seguridad de fármacos requieren el uso de algunos perros", declaró Wendy Jarrett, presidenta de *Understanding Animal Research*.

Jarrett recuerda que la cirugía a corazón abierto y el trasplante de órganos fueron posibles gracias a la investigación con perros. "Todas las vacunas y medicinas que reciben nuestros perros domésticos se han probado en perros. Y la seguridad de la mayor parte de las medicinas para humanos se ha comprobado en

perros antes de confirmarse en ensayos clínicos con voluntarios humanos".

La Agencia Europea de Medicamentos requiere estos exámenes de toxicidad en roedores y en una segunda especie de mamífero, que suele ser el perro por sus semejanzas fisiológicas. "Cualquier científico que quiere investigar con perros tiene que demostrar ante un comité de bioética que no hay otra alternativa o no puede utilizar otro modelo animal", explica Juan Lerma, director del Instituto de Neurociencias de Alicante.

El veterinario Javier Guillén, presidente de la Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio, subraya que "todos los perros que se utilizan están criados exclusivamente para la experimentación animal, los perros tienen espacios amplios requeridos por la ley, generalmente viven en grupos, hacen ejercicio e interactúan con sus cuidadores".

La percepción generalizada es que se investiga con animales sólo para beneficio humano, pero los perros, como el resto de animales, se benefician de la investigación realizada con ellos mismos para desarrollar las vacunas y tratar las enfermedades propias de la especie. Las pruebas en perros fueron, por ejemplo, imprescindibles para producir la vacuna contra la rabia.

En España también se emplean perros para intentar vencer enfermedades humanas. Javier Fernández-Ruiz, catedrático de bioquímica de la Universidad Complutense de Madrid, va a comenzar un estudio en perros que padecen una enfermedad parecida a la esclerosis lateral amiotrófica, un problema degenerativo. Los Beagle también se han utilizado para probar nuevos tratamientos de terapia génica contra el síndrome de Sanfilippo, una enfermedad rara que se manifiesta pronto en los niños con síntomas como retraso mental, problemas respiratorios y convulsiones. Los niños quedan en estado vegetativo y mueren en pocos años. El proyecto tiene como líder científico a la profesora Fátima Bosch, de la Universidad Autónoma de Barcelona.

La clave, como coincidieron recientemente filósofos y juristas en la presentación del ensayo *El Derecho de los animales*, podría estar en invertir más dinero para buscar alternativas a la investigación animal.

http://elpais.com/elpais/2015/07/20/ciencia/1437390371_753935.html

La UE rechaza la petición ciudadana de prohibir la experimentación animal

« La Comisión Europea ha rechazado la iniciativa ciudadana Stop Vivisection, respaldada por 1,17 millones de firmas, que pedía el fin de la experimentación científica con animales »

Gracias a importantes avances tecnológicos, Europa está reduciendo el número de ensayos con animales. No obstante, ahora sería prematuro prohibir completamente la investigación con animales en la UE.

Las principales sociedades científicas europeas insisten a día de hoy, que es imposible renunciar por completo a la experimentación animal, clave en el desarrollo de prácticamente todos los tratamientos contra enfermedades humanas y animales. "El objetivo final de la legislación de la UE es eliminar los ensayos con animales. En respuesta a la iniciativa ciudadana, la Comisión Europea adoptará una serie de medidas para acelerar los avances en la generalización y uso de métodos alternativos", ha declarado Karmenu Vella, comisario de Medio Ambiente.

La Comisión recuerda que la Directiva 2010/63/UE, que quería derogar la iniciativa ciudadana, tiene por objeto "aumentar el bienestar de los animales cuyo uso es necesario para la investigación científica". Para este fin, en los laboratorios europeos se aplica el principio de las 3Rs: 1) Reemplazar por cultivos celulares o simulaciones informáticas el uso de animales cuando es posible; 2) Reducir el número de animales empleados a los estrictamente necesarios; y 3) Refinar los métodos empleados para mejorar el bienestar animal.

La institución europea cree que una prematura prohibición de la investigación con animales en la UE probablemente provocaría una exportación de la investigación y la experimentación biomédica fuera de la UE, a países donde las normas de bienestar pueden ser menos exigentes y en los que pueden necesitar más animales para lograr el mismo resultado científico.

La iniciativa Stop Vivisection se presentó a la Comisión Europea con el apoyo de organizaciones de defensa de los animales, como el Partido Animalista Europeo. Entre los

miembros del comité de ciudadanos se encontraba la médico española Nuria Querol, fundadora del Grupo para el Estudio de la Violencia Hacia Humanos y Animales.

En febrero, la Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE) publicó un documento oficial en el que defendía que el uso de animales en la investigación es vital para el avance de la medicina. El informe consideraba que el número de animales utilizados en los laboratorios es relativamente pequeño.

Juan Lerma, director del Instituto de Neurociencias de Alicante y coordinador del documento de la COSCE, aplaude la decisión tomada por la Comisión Europea. "Todos los científicos intentamos evitar el uso de animales cuando es posible. De hecho, trabajar con una línea celular es más fácil y más barato que emplear un animal, pero muchas veces es imposible porque se aleja de la realidad. Yo soy neurocientífico y una línea celular no es un cerebro", señala Lerma.



Foto: shutterstock

http://elpais.com/elpais/2015/06/03/ciencia/1433332057_271437.html

Un fármaco derivado del cannabis ralentiza el Alzheimer en ratones

« Un equipo de investigadores del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL) ha probado en ratones que un fármaco derivado del cannabis ralentiza, tanto a nivel cognitivo como molecular, el avance del Alzheimer en ratones »

El estudio ha constatado que la administración de este fármaco, formado por una combinación de dos variedades de la planta del cannabis, produce mejoras importantes en los ratones tratados durante las fases iniciales de la enfermedad.

"Hemos probado que suministrar estos dos extractos de planta de cannabis a un modelo animal (ratones modificados genéticamente para que desarrollen Alzheimer) tiene efectos beneficiosos porque no tienen la misma pérdida de memoria", ha explicado la doctora Ester Aso, que lidera el proyecto de investigación. Los científicos empezaron a tratar a los ratones en etapas iniciales de la enfermedad, cuando iniciaban la sintomatología clásica de pérdida de memoria, y descubrieron que, tras cinco semanas suministrándoles el fármaco, los animales no sólo no presentaron problemas de memoria, sino que tampoco tuvieron dificultades en tareas de aprendizaje.

Con la administración de este fármaco, que ya ha sido aprobado en España para tratar la espasticidad (tensión de los músculos) en la esclerosis múltiple, los científicos han conseguido reducir la inflamación y la toxicidad de las moléculas amiloides, que son las marcas distintivas que se puede ver en los pacientes con Alzheimer. Además, este fármaco modula el estrés oxidativo, otro de los procesos comunes en este tipo de enfermedades neurodegenerativas y que hace que las células generen compuestos oxidantes que dañan a otras moléculas del entorno. "La suma de todos estos efectos podría explicar la mejora a nivel cognitivo observada en los animales tratados", explica la doctora Aso.

Las bajas dosis suministradas de esta combinación de extractos de cannabis hacen que los científicos descarten casi completamente la posibilidad de efectos secundarios. Las dosis del fármaco son muy bajas, una décima parte de lo máximo permitido, por lo que los investigadores asumen que no habrá efectos secundarios. En cualquier caso, los efectos derivados de este fármaco son muy leves, como náuseas, mareos o malestar.

Al tratarse de un fármaco ya comercializado para la esclerosis múltiple y que está en fase avanzada de desarrollo clínico para otras aplicaciones terapéuticas, los científicos calculan que los primeros ensayos clínicos con humanos no tardarán mucho tiempo. "Esperamos que un tratamiento prolongado permita ralentizar la progresión de la enfermedad en los humanos. Esto no es curativo porque no evitamos la causa de la enfermedad, pero ralentizamos el proceso porque mitigamos las consecuencias negativas", ha puntualizado la doctora.



Foto: shutterstock

http://ccaa.elpais.com/ccaa/2015/06/04/catalunya/1433434278_638497.html

Secaleros por el mundo



Yolanda Saavedra Torres

Esta Secalera nacida en Barcelona hace 40 años y licenciada en Veterinaria por la Universidad Autónoma de Barcelona, se doctoró en Neurociencias tras una larga tesis doctoral bajo la dirección de Patri Vergara y fue la primera en seguir el programa de residencia en medicina de animales de laboratorio.

Su interés por la medicina de animales de laboratorio despertó durante su etapa como estudiante predoctoral, ya que a veces sus ratas tenían problemas de salud y ni tenía los conocimientos necesarios ni tenía a nadie a quien recurrir. Fue entonces cuando se dio cuenta que se necesitaban más veterinarios en el área del animal de laboratorio. Una nueva salida a explotar en un país con demasiados veterinarios. Hacia el 2001, empezó a trabajar para el SIAL (Serveis Integrats de l'Animal de Laboratori) y el SE (Servei d'Estabulari) de la UAB, ambos dirigidos por Jordi Canto, del que aprendió todo lo relacionado con gestión y funcionamiento de un animalario. Patri y Jordi son las dos personas que definitivamente han influido más en su carrera profesional.

En el 2007, consiguió el diploma ECLAM (*European College of Laboratory Animal Medicine*) y un año más tarde, se fue a Londres.

Se marchó de España porque quería ampliar sus posibilidades profesionales y cambiar de aires. En principio no tenía preferencia por ningún país. Su primera entrevista fue en Londres y el mismo día le ofrecieron el puesto de veterinaria.

Suponía un cambio radical de vida, tanto profesional como personal, pero se marchó de todas formas, con la intención de volver en 2-3 años. Después de casi siete años, todavía sigue allí.

Empezó a trabajar como veterinaria en MRC-NIMR (*Medical Research Council, National Institute for Medical Research*) en Septiembre de 2008. El principio fue duro, porque no conocía a nadie allí.

Londres es una ciudad muy cosmopolita y esta Secalera tiene amigos de todas partes del mundo. La comida por supuesto no tiene ni punto de comparación, pero hay buenos restaurantes y se puede encontrar hasta jamón serrano en el supermercado en momentos de nostalgia. A los 2 meses de estar en Londres, conoció al que es ahora su marido en un curso para *Named Veterinary Surgeon* y ahora ya tienen 3 niños, una casa y como no, una hipoteca. Piensa volver a España algún día, quizás cuando se jubile; puede que antes dependiendo de las circunstancias.

El trabajo consiste en visitar regularmente los animalarios y establecer tratamientos cuando son necesarios. Forma parte del comité ético (AWERB) y asesora a los investigadores y técnicos en temas de anestesia y cirugía, técnicas para toma de muestras y administración de sustancias, necropsia, diseño experimental, alimentación, bienestar, etc.

Además tiene un laboratorio donde pone a punto técnicas para la detección de enfermedades en diversas especies de animales de laboratorio que después utiliza para el control sanitario de los animalarios.

Allí todo el trabajo experimental con animales está mucho más regulado y controlado por parte de la administración. La nueva Directiva Europea está basada en la legislación británica, eso os puede dar una idea.

Estás a un clic

de navegar en nuestro sitio web,
donde encontrarás información de
las ciencias del animal de laboratorio
www.secal.es



-  Dispositivos móviles (Celulares / Tablets)
-  Fácil de navegar



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

Imagen ecográfica en investigación oncológica

J.A. Cámara¹, E. Andrés¹, S. Sánchez¹, G. Visdómine¹, I. Blanco² y F. Mulero¹

¹ Unidad de Imagen Molecular, ² Unidad de Animalario
Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de modelos animales capaces de desarrollar tumores espontáneos tuvo como consecuencia un incremento en la demanda de técnicas de imagen *in vivo*, con el objetivo de reducir el tamaño de los grupos experimentales y mejorar la fiabilidad de los estudios (1). Estas técnicas de imagen se asimilaron de la práctica clínica, incluyendo sus aplicaciones, ventajas e inconvenientes (1,2). Como sucede en clínica, el uso de una u otra herramienta depende de las características del estudio, objetivos, órganos diana, e incluso, el tipo de información que se pretende obtener.

Dentro de las técnicas de imagen, la ecografía se presenta como una herramienta de análisis rápida, barata, inocua, e ideal para la realización de *screenings* o cribados - análisis de presencia y localización de tumores (1,2) - y monitorización no invasiva en estudios longitudinales.

Ventajas e inconvenientes de la ecografía

El estudio ecográfico se suele caracterizar por ser un estudio no invasivo y de una realización rápida cuando se tienen conocimientos suficientes (1,2,3). Salvo en los estudios con contraste, el resto de modos ecográficos no suponen ningún daño para el animal. Se recomienda la anestesia de los animales para evitar el movimiento y estrés de los mismos.

Al tratarse de una prueba en tiempo real, los resultados que se obtienen de un estudio ecográfico son, en la mayoría de los casos, inmediatos (1,2,3,13), lo que permite tomar decisiones rápidas, evitando retrasos.

Otras ventajas de la ecografía son su bajo coste y que no utiliza radiación, por lo que no está sujeta a legislación específica para su manejo y no requiere instalaciones complejas con medidas de radioprotección.

Comparada con otras técnicas de imagen como la TC (Tomografía Computerizada) o la RM (Resonancia magnética), la ecografía es una buena técnica de imagen en el análisis de tejidos blandos, ya que posee una alta capacidad de contraste entre tejidos, y una resolución mínima considerable (3).

Por último, la ecografía es una de las técnicas de imagen con clara traslacionalidad. Esto permite una rápida extrapolación de resultados entre la imagen preclínica y la clínica, en ambas direcciones (2).

La principal desventaja de la ecografía, como ocurre en su versión clínica, es que se trata de una técnica operador-dependiente. Los resultados que se obtienen de los estudios ecográficos dependen de manera directa de los conocimientos y experiencia del ecografista. Cuanto mayor sea el conocimiento del operador (anatomía, interpretación ecográfica, conocimiento de artefactos ecográficos...) mayor información y de mejor calidad se podrá obtener de los estudios (1,2).

Otra de las desventajas de la ecografía es que se trata de un estudio en el que se observa un solo corte de la estructura, no teniendo referencias ni datos acerca del resto del órgano estudiado. Esto se ha solucionado en parte mediante el uso de motores 3D (1).

A diferencia de otras técnicas de imagen, la ecografía no es muy utilizada para el análisis de estructuras como el hueso o los pulmones (1,2). En cuanto a la superficie ósea, algunos estudios concluyen que la ecografía sólo es útil para la valoración de articulaciones. Con respecto a los pulmones, la ecografía se limita al examen ante la sospecha de líquido pulmonar (quilotórax, hemotórax, etc...), o al análisis de masas adheridas a la pared pleural. Para masas intrapulmonares o incluso intratraqueales o bronquiales, no es una técnica recomendada.

La última desventaja es que esta técnica aporta información casi exclusivamente anatómica. Los únicos modos ecográficos que pueden aportar cierta información relativa a funcionalidad son la ecografía con contraste y el doppler (2).

Bases físicas de la ecografía

Los ultrasonidos (US) son ondas mecánicas imperceptibles por el oído humano (más de 20.000 Hertzios). Su propagación es longitudinal y no se transmiten por el vacío (2). Los US poseen una frecuencia (número de ciclos por unidad de tiempo del proceso ondulatorio) y una longitud de onda (espacio que la onda avanza en cada ciclo), y estas dos características son inversamente proporcionales (2).

El cambio de medio por el que se propagan los US se define como interfase, y en ella sufren procesos que influyen en su capacidad de propagación (2,3). La reflexión produce en la interfase una nueva onda con la misma dirección pero sentido opuesto al de la onda originaria. Esta nueva onda, o eco, es recogida e interpretada por el equipo ecográfico, representándose en la pantalla del equipo como un punto de la imagen, cuya intensidad depende de la naturaleza de la interfase generadora (3).

Altas frecuencias de US conllevan menores longitudes de onda y mayores posibilidades de encontrar una interfase y sufrir una reflexión, precipitando la desaparición de la onda de US a escasa distancia de su origen. Esta es la razón por la que un estudio ecográfico de alta frecuencia sólo puede llevarse a cabo en estructuras muy superficiales (3). Sin embargo, el gran número de choques US/interfase genera multitud de ecos que proporcionarán una imagen de gran resolución (2). Es misión del ecografista valorar la estructura a estudio y elegir una sonda ecográfica con la frecuencia de onda idónea para obtener, por un lado, una buena calidad de imagen (óptima resolución), y por otro, una buena profundidad de exploración (óptima penetración).

PROCEDIMIENTO TÍPICO DE EXPLORACIÓN ECOGRÁFICA

Todas las exploraciones ecográficas que se realizan por parte de la Unidad de Imagen Molecular del CNIO siguen el procedimiento aprobado por el Comité de Ética de Investigación y de Bienestar Animal (IACUC) interno del centro y dentro de un proyecto aprobado por la Autoridad Competente.

Las exploraciones se realizan con el animal anestesiado mediante Isoflurano al 4-5% en inducción y 2% en mantenimiento. Para evitar la posible hipotermia secundaria a la anestesia, la cama-soporte sobre la que se sitúa al animal posee un sistema calefactor, y la temperatura del animal se controla con una sonda rectal. Los animales se colocan en decúbito supino o prono, en función de la estructura a explorar, pero siempre en una posición relajada. Se depila la zona de interés y se aplica gel ecográfico previo al inicio del estudio. Este soporte además cuenta con detectores de ECG para sincronizar el latido cardiaco, muy útil en los estudios ecocardiográficos.

Una vez concluida la exploración, el animal se devuelve a su cubeta, confirmando en todo momento que se encuentra en óptimas condiciones.

MODOS ECOGRÁFICOS MÁS UTILIZADOS EN ONCOLOGÍA PRECLÍNICA

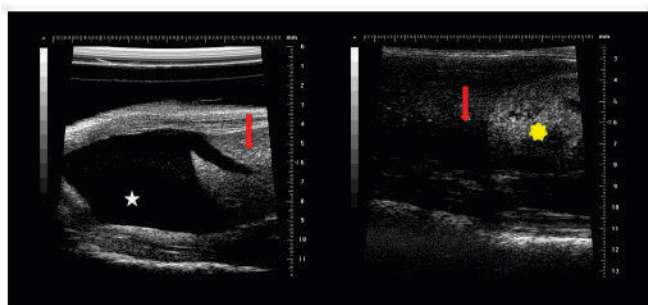
Ecografía en Modo B

El modo B o Brillo es el modo ecográfico más utilizado y es el comúnmente conocido como "escala de grises". En él, la imagen se compone de múltiples puntos con diferentes intensidades de brillo y posición. Estos valores dependen de la naturaleza del eco recibido (intensidad y tiempo).

El modo B es un modo bidimensional que representa una sección o corte tomográfico de la estructura a estudio, y en el que se pueden valorar sus dimensiones, morfología, conformación interna e intensidad de señal (2). Esta última valoración se realiza siempre mediante la comparación de estructuras; así existen diferentes tipos de ecogenicidades en la ecografía en modo B (ver Figura 1):

- Una estructura es hiperecogénica con respecto a otra si presenta una mayor intensidad de señal (imagen más brillante).
- Una estructura es hipoecogénica con respecto a otra si su intensidad es menor (imagen más oscura).
- Una estructura es anecogénica si no presenta señal (imagen negra).

En condiciones normales, las relaciones de ecogenicidad de las diferentes estructuras anatómicas son constantes. La pérdida de estas relaciones de ecogenicidad puede ser indicativa de alteraciones en las estructuras estudiadas (4).



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 1.- Ejemplo de diferentes ecogenicidades. Izquierda: el hígado (flecha roja) es hiperecogénico con respecto al líquido libre (estrella blanca). Derecha: el hígado es hipocogénico (flecha roja) con respecto al riñón derecho (asterisco amarillo).

La mayoría de los estudios ecográficos en investigación oncológica preclínica se realizan mediante modo B, y buscan encontrar alteraciones estructurales en órganos o la presencia de masas en diferentes localizaciones. Una vez localizada la masa o tumor, se procede a valorar sus dimensiones, morfología y estructura interna.

Otros usos que presenta la ecografía en modo B son los análisis gestacionales -incluyendo la datación fetal (5) - o la ecografía intervencionista - realización de punciones /aspiraciones o administración ecoguiada de sustancias (6).

Las principales ventajas de este modo ecográfico son su rapidez y su inocuidad. Su principal limitación es la espacial, se aprecia un solo corte de la estructura, perdiendo información del resto del órgano a estudio (7). Otra desventaja de este modo es la escasa cuantificación que se puede hacer de los resultados.

Ecografía en Modo M

El modo M o Movimiento es el modo ecográfico más utilizado en ecocardiografía (8,9); también es muy útil en el análisis de vasos sanguíneos (10).

Se trata de un modo en el que se representa una sección longitudinal de modo B a lo largo del tiempo, y sirve para valorar estructuras móviles (de ahí el termino *Movimiento*). La sección que se analiza se elige durante una exploración en modo B, tras lo cual se representa en el eje de ordenadas, y se repite a lo largo del eje de abscisas durante el tiempo que dura la exploración (ver Figura 2).

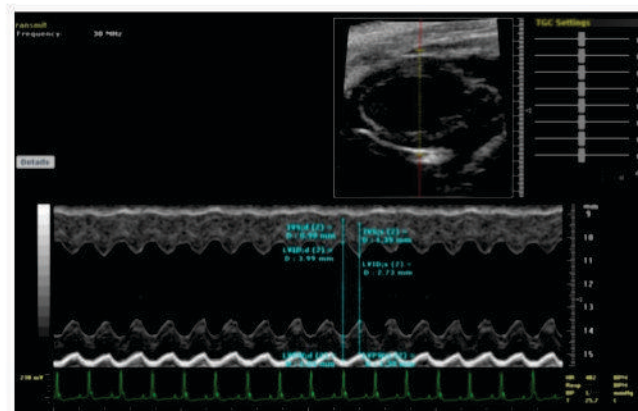


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Modo M y B en un corazón de ratón. Parte superior: modo B. Parte inferior: se observa el trazado en modo M y las medidas resultantes del análisis.

La principal ventaja de este modo es su rapidez. Su principal inconveniente es la limitación espacial.

Ecografía Doppler

Este modo se basa en el denominado efecto Doppler (el análisis de los ecos generados por una partícula en movimiento permite obtener información acerca del mismo; 2). En el caso de la investigación oncológica preclínica, el modo Doppler se utiliza en el análisis de flujos sanguíneos (11).

Los protocolos de estudio recomiendan realizar las exploraciones Doppler de vasos sanguíneos en un corte longitudinal de los mismos, intentando obtener una imagen del trayecto completo de los vasos, y aplicando un ángulo de incidencia sobre su eje longitudinal menor de 30° (2).

Existen tres tipos de estudios Doppler (12), en función de sus características (ver Figura 3):

- *Doppler pulsado*: se representa un flujo de partículas en movimiento a lo largo del tiempo, aportando información, por ejemplo, de la velocidad y la intensidad de flujo, o la frecuencia de pulsos. Con estos datos se pueden calcular volúmenes de flujo, índices de resistencia vascular, índices de pulsatibilidad vascular, y otros parámetros (11). El principal inconveniente de este modo Doppler es que requiere unas intensidades de señal Doppler mínimas para poder caracterizarlas.

- *Power Doppler*: este modo posee una gran sensibilidad, por lo que se utiliza en la búsqueda de flujos débiles (13). Tras la utilización de este modo, se suele proceder el estudio pulsado de la señal, con el fin de caracterizar el flujo observado (2).
- *Doppler color*: en este estudio se representa mediante un gradiente de color la velocidad de la señal Doppler, así como su dirección con respecto a la sonda ecográfica. De este modo, las señales Doppler que se alejan de la sonda se colorean en azul, mientras que las señales que se acercan son de color rojo (2). La intensidad de color (de azul/rojo oscuro a blanco) se corresponde con la velocidad del flujo. Este modo se utiliza para caracterizar vasos cuando existen dudas acerca de su naturaleza (venas y arterias) o para valorar la aparición de flujos sanguíneos anómalos o turbulentos (como en los *shunts* u obstrucciones vasculares).

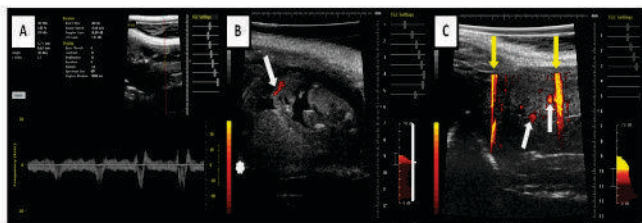


Figura 3.- Modo Doppler. A) Modo pulsado. B) Modo Power en arteria umbilical. C) Modo Power de flujo intrahepático (flechas blancas), apreciándose una señal de artefacto por movimiento (flechas amarillas).

La realización de estudios Doppler a mano no se recomienda ya que el movimiento involuntario de la sonda alterará en gran medida la posibilidad de obtener resultados fiables al tratarse de señales, en la mayoría de los casos, de baja intensidad.

Otra limitación de los estudios Doppler es que, de manera similar a la ecografía en modo B, los estudios son tomográficos, por lo que existe una limitación espacial.

Además, también hay que tener en cuenta la posible influencia del plano anestésico del animal en los valores de presión arterial y flujo de los vasos sanguíneos. A este respecto, existen diferentes artículos que analizan la influencia que tienen los fármacos anestésicos más usados sobre diferentes parámetros cardiovasculares de los animales (14). Con el fin de evitar la posible variabilidad de resultados por causas anestésicas, es recomendable utilizar siempre el mismo protocolo anestésico durante un experimento, así como confirmar que el plano

anestésico alcanzado por el animal, antes de comenzar la ecografía, es el correcto.

El principal uso de la ecografía Doppler en oncología preclínica es el análisis de neoangiogénesis tumoral. En estos estudios, se precisan caracterizar los diferentes vasos sanguíneos que se desarrollan dentro del tumor. En este sentido, la ecografía Doppler presenta una limitación, ya que son necesarias unas intensidades de flujo sanguíneo mínimas para poder analizarse. Vasos sanguíneos de escaso calibre producen señales Doppler débiles, que van a ser difíciles de diferenciar del ruido o fondo durante el estudio (15).

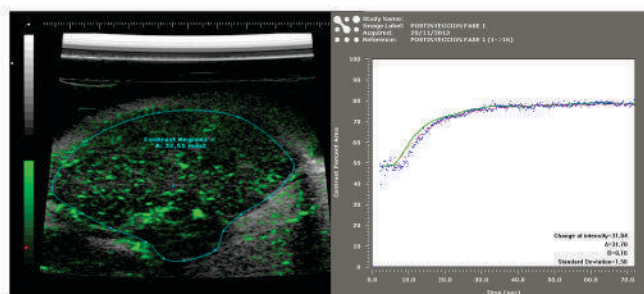
Ecografía de contraste

Los medios de contraste se componen, en la mayoría de los casos, de una capsula lipídica en la que se introduce un gas inerte. Este gas genera una interfase gas-tejido blando, que ecográficamente se traduce en una señal hiperecogénica, que es cuantificada durante el análisis ecográfico. Las capsulas lipídicas quedan atrapadas en el lecho vascular, sin atravesar la pared de los vasos e invadir el espacio extracelular (16). Por este motivo, estos medios de contraste son idóneos para el estudio vascular (15,16).

El uso de contrastes en la ecografía de animales de laboratorio ha experimentado un incremento en los últimos años, gracias al desarrollo de sondas específicas, que se combinan con medios de contraste rutinarios, para así incrementar su especificidad (2). Debido a ello, existen dos tipos de contrastes ecográficos, los no específicos y los específicos.

La cinética típica de los contrastes no específicos se define por la presencia de una fase aguda de llegada al tejido y una lenta eliminación del mismo (ver Figura 4). La representación gráfica de este proceso permite el análisis de la vascularización tisular, ya que la intensidad de llegada del contraste y su eliminación dependen directamente del flujo vascular local (15). La comparación de diferentes gráficas permite realizar un análisis de flujos vasculares en diferentes tejidos, o, por ejemplo, en un mismo tejido tras un tratamiento.

Los contrastes ecográficos específicos se componen de las mismas cápsulas o microburbujas, unidas a un ligando específico, que se fija a su diana de manera más estable que los contrastes puramente vasculares. Los ligandos más comunes son antígenos



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 4.- Estudio de contraste ecográfico. Izquierda: realización de una ROI sobre la estructura a estudio. Derecha: curva resultado; en el eje X se representa el tiempo y en el eje Y, el porcentaje de contraste en el área analizada.

presentes en el compartimento vascular, por ejemplo en células endoteliales, leucocitos o plaquetas (17).

Los ligandos más sencillos se aprovechan de la habilidad natural de ciertos componentes de las cápsulas, como la albumina, para unirse de manera directa o indirecta a células que se han activado de manera patológica. Aunque la especificidad de este efecto es limitada, es la manera más sencilla de realizarlo. Otros métodos más específicos utilizan ligandos como anticuerpos o pequeños péptidos para unirlos a la superficie del contraste ecográfico (17).

Aunque el uso principal de los contrastes ecográficos es el de analizar la vascularización de los tejidos, existe una modalidad de ecografía unida a tratamiento y basada en la utilización de medios de contraste ecográficos en cuyo interior se vehiculiza el fármaco a utilizar. El comportamiento de estas cápsulas "cargadas" es similar al de los contrastes ecográficos típicos. Una vez monitorizada la llegada de las cápsulas al tejido u órgano diana, se emite un pulso ultrasónico de alta energía que rompe la estructura de las cápsulas y libera el fármaco en la zona específica (18).

Las limitaciones principales del estudio ecográfico con contraste son las típicas de la ecografía común: el movimiento y la limitación espacial (16).

Otra de las limitaciones del estudio es la aparición de falsas señales de contraste, como pueden ser los líquidos en movimiento (estructuras quísticas, ascitis, etc....), o mineralizaciones de tejido que incrementan de manera irreal la señal asociada al contraste (ver Figura 5). También se debe tener cuidado, en los estudios de microvascularización, de no incluir en la imagen ecográfica un vaso sanguíneo, ya que la presencia de éstos produce un error en el análisis cinético, pues el contraste

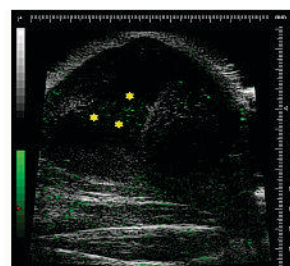


Figura 5.- Artefacto en estudio de contraste ecográfico. El líquido libre intraquístico se interpreta erróneamente como señal procedente de contraste (asteriscos amarillos).

Imagen suministrada por la autoría

ecográfico aparecerá en el vaso previamente a su distribución por el tejido (19).

Ecografía en 3D

El desarrollo de nuevos equipos y programas informáticos de imagen ha permitido la aparición de un nuevo modo ecográfico, el modo 3 dimensiones. Este modo corresponde con un tipo de exploración tridimensional de cualquiera de los modos de ecografía típicos (modo B, modo Power Doppler, estudio de contraste ecográfico).

Una ecografía tridimensional se compone de sucesivos cortes tomográficos (imágenes ecográficas típicas) integrados para formar una imagen tridimensional completa. La adquisición de estos cortes se realiza a través de la sonda ecográfica y ésta se desplaza sobre la muestra gracias a un motor 3D.

El principal uso de este tipo de ecografía es evitar la limitación espacial de la ecografía y permitir el cálculo preciso, por ejemplo, de volúmenes en modo B (20; ver Figura 6), o cantidad total de flujo vascular en una estructura mediante un estudio en modo Power Doppler (7,13,20; ver Figura 7). Incluso se puede valorar el contenido total de contraste ecográfico presente en una muestra tras la inyección del compuesto (7).

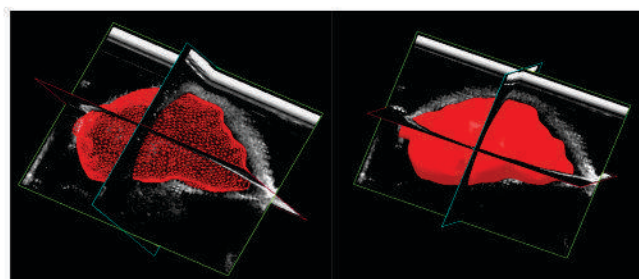
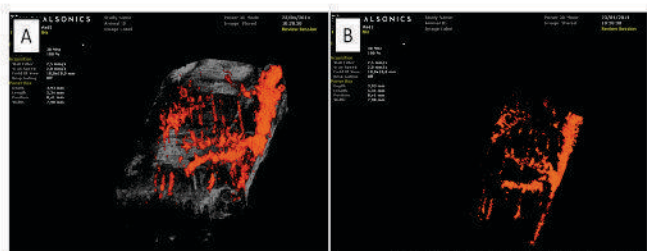


Imagen suministrada por la autoría

Figura 6.- Imágenes de un estudio 3D con creación de un volumen de interés.



Imágenes suministradas por la autora

Figura 7.- Estudios 3D Power Doppler de la vascularización renal. En la figura A se combinan la imagen modo B y Power Doppler, mientras que en la imagen B sólo se observa la vascularización.

Las limitaciones de este tipo de ecografía son las mismas que se aplican al modo básico que se vaya a utilizar.

Elastografía y análisis de radiofrecuencias

La elastografía es una técnica de análisis de tejidos en la que se mide la rigidez de una estructura en función de los cambios que sufre su morfología al ser sometida a una presión conocida (21). Este dato puede informar acerca de la composición de los tejidos, ya que la elasticidad de los mismos suele ser debida a la cantidad de colágeno de las estructuras. Las variaciones en la elasticidad pueden indicar, por ejemplo, si un tratamiento ha sido capaz de modificar la relación de tejido celular/estroma de un tumor (22).

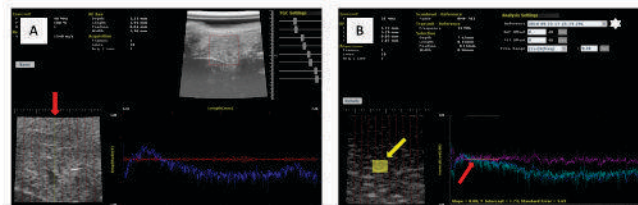
Numerosos equipos clínicos poseen el modo de elastografía. En este tipo de estudios, el ecografista realiza un análisis de la estructura a estudiar antes y después de realizar una presión manual con la sonda sobre la zona explorada. Esto permite, por ejemplo, clasificar los tumores hepáticos o diferenciarlos de los nódulos cirróticos o de regeneración (23).

En el caso de la investigación preclínica oncológica en pequeños animales, se puede realizar una medición de radiofrecuencias.

El equipo de análisis de radiofrecuencia recoge los ecos que vuelven durante una exploración ecográfica típica. Estos ecos regresan en forma de ondas de radiofrecuencia y son interpretados, en los modos ecográficos típicos, y representados como parte de una imagen. Los estudios de radiofrecuencia no convierten estas ondas en píxeles, sino que las representan en forma de gráficas aportando información acerca de los decibelios del eco. Cada gráfica representa una sección de la imagen visualizada, desde la superficie hasta la zona más profunda, y las características de la gráfica representada dependen de la naturaleza de las estructuras que componen esa sección analizada.

El estudio por radiofrecuencia permite comparar diferentes tejidos o estructuras en función de la señal que llega de vuelta al ecógrafo. En la mayoría de los casos se realiza un estudio basal, que se define como “patrón”. Tras realizar el tratamiento o la manipulación descrita en el experimento, se vuelve a analizar la estructura y se compara la gráfica obtenida con la gráfica “patrón” original. De este modo, se puede valorar numéricamente la diferencia de señal recibida por el equipo (24).

Los estudios de radiofrecuencia no son estrictamente elastografías, pues no analizan los cambios de señal tras someter los tejidos a presiones; pero pueden ser utilizados ante sospechas de cambios estructurales en los tejidos (24; ver Figura 8).



Imágenes suministradas por la autora

Figura 8.- A) Análisis por radiofrecuencia de un tumor. La gráfica representada corresponde a la sección de la imagen elegida en la ventana de la izquierda (flecha roja). B) Análisis comparativo de dos estudios de radiofrecuencia. La línea amarilla (flecha roja) corresponde con la recta de regresión al realizar la comparación entre el estudio actual y el que se toma como referencia (asterisco blanco). En este caso se analiza una sección de la imagen (flecha amarilla).

La principal limitación de este modo ecográfico es que, al ser un estudio comparativo en el tiempo, las secciones estudiadas pueden variar, con lo que los resultados pueden verse influidos al estudiar secciones de tejido no idénticas. En este caso no se puede utilizar el modo 3D para analizar toda la estructura; para ello se deberán realizar sucesivos estudios a lo largo del órgano a analizar. Una manera de minimizar esta variabilidad es tomar referencias anatómicas de las zonas analizadas para ser localizadas en los sucesivos estudios.

CONCLUSIONES

La ecografía es una técnica de imagen que puede ser utilizada en investigación preclínica en multitud de situaciones, reduciendo el número de animales de los experimentos y aportando información valiosa en el desarrollo de estudios longitudinales. Como cualquier técnica de imagen, posee ciertas limitaciones básicas, aunque éstas pueden compensarse utilizando alguno de los modos ecográficos descritos en este artículo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wirtzfeld L.A., Wu G., Bygrave M., et al. *A new three-dimensional ultrasound microimaging technology for preclinical studies using a transgenic prostate cancer mouse model.* Cancer Res. 2005, 65(14):6337-45.
2. Coatney R.W. *Ultrasound imaging: principles and applications in rodent research.* ILAR J. 2001, 42(3):233-47.
3. Sastra S.A. and Olive K.P. *Quantification of murine pancreatic tumors by high-resolution ultrasound.* Methods Mol Biol. 2013, 980:249-66.
4. Pennick D. *Atlas of small animal ultrasound.* 1ª edición. Blackwell publishing. New Jersey, 2008.
5. Brown S.D., Zurakowski D., Rodriguez D.P., et al. *Ultrasound diagnosis of mouse pregnancy and gestational staging.* Comp Med. 2006, 56(4):262-71.
6. Zhou Y.Q., Davidson L., Henkelman R.M., et al. *Ultrasound-guided left-ventricular catheterization: a novel method of whole mouse perfusion for microimaging.* Lab Invest. 2004, 84(3):385-9.
7. Hoyt K., Sorace A., and Saini R. *Quantitative mapping of tumor vascularity using volumetric contrast-enhanced ultrasound.* Invest Radiol. 2012, 47(3):167-74.
8. Tanaka N., Dalton N., Mao L., et al. *Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse.* Circulation 1996, 94(5):1109-17.
9. Franchi F., Knudsen B.E., Oehler E., et al. *Non-invasive assessment of cardiac function in a mouse model of renovascular hypertension.* Hypertens Res. 2013, 36(9):770-5.
10. Ovechkin A.V., Tyagi N., Sen U., et al. *3-Deazaadenosine mitigates arterial remodeling and hypertension in hyperhomocysteinemic mice.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2006, 291(5):L905-11.
11. Tozaki M., Toi M., Miyamoto Y., et al. *Power Doppler sonography of breast masses: correlation of Doppler spectral parameters with tumor angiogenesis and histologic growth pattern.* J Ultrasound Med. 2000, 19(9):593-600.
12. Allan P.L., Dubbins P.A., Pozniak, et al. *Clinical Doppler Ultrasound.* 2ª edición. Editorial Churchill Livingstone. Londres, 2006.
13. Xuan J.W., Bygrave M., Jiang H., et al. *Functional neoangiogenesis imaging of genetically engineered mouse prostate cancer using three-dimensional power Doppler ultrasound.* Cancer Res. 2007, 67(6):2830-9.
14. Stypmann J. *Doppler ultrasound in mice.* Echocardiography 2007, 24(1):97-112.
15. Loveless M.E., Li X., Huamani J., et al. *A method for assessing the microvasculature in a murine tumor model using contrast-enhanced ultrasonography.* J Ultrasound Med. 2008, 27(12):1699-709.
16. Albrecht T., Blomley M., Bolondi L., et al. *EFSUMB Study Group. Guidelines for the use of contrast agents in ultrasound.* Ultraschall Med. 2004, 25(4):249-56.
17. Inaba Y. and Lindner J.R. *Molecular imaging of disease with targeted contrast ultrasound imaging.* Transl Res. 2012, 159(3):140-8.
18. Carson A.R., McTiernan C.F., Lavery L., et al. *Ultrasound-targeted microbubble destruction to deliver siRNA cancer therapy.* Cancer Res. 2012, 72(23):6191-9.
19. Palmowski M., Huppert J., Hauff P., et al. *Vessel fractions in tumor xenografts depicted by flow- or contrast-sensitive three-dimensional high-frequency Doppler ultrasound respond differently to antiangiogenic treatment.* Cancer Res. 2008, 68(17):7042-9.
20. Zhao L., Zhan Y., Rutkowski J.L., et al. *Correlation between 2- and 3-dimensional assessment of tumor volume and vascular density by ultrasonography in a transgenic mouse model of mammary carcinoma.* J Ultrasound Med. 2010, 29(4):587-95.
21. Ophir J., Céspedes I., Ponnekanti H., et al. *Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues.* Ultrason Imaging 1991, 13(2):111-34.
22. Alvarez R., Musteanu M., Garcia-Garcia E., et al. *Stromal disrupting effects of nab-paclitaxel in pancreatic cancer.* Br J Cancer. 2013, 109(4):926-33.
23. Sandulescu L., Rogoveanu I., Gheonea I.A., et al. *Real-time elastography applications in liver pathology between expectations and results.* J Gastrointest Liver Dis. 2013, 22(2):221-7.
24. Kim K., Jeong C.G., and Hollister S.J. *Non-invasive monitoring of tissue scaffold degradation using ultrasound elasticity imaging.* Acta Biomater. 2008, 4(4):783-90.

Imagen en animal de laboratorio con microTomografía Computerizada (TC) Y Densitometría

S. Sánchez¹, G. Visdómine¹, J.A. Cámara¹, E. Andrés¹, E. SanMartin¹, I. Blanco² y F. Mulero¹

¹ Unidad de Imagen Molecular, ² Unidad de Animalario
Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid

TOMOGRFÍA COMPUTERIZADA (TC)

Introducción a la TC

Las imágenes en TC están basadas en la diferente absorción de los rayos X por parte de los tejidos. Los diferentes tejidos, incluyendo los tumores, con diferente composición van a tener un patrón de absorción de rayos X distinto (1,2), que hace que se identifiquen en la imagen (ver Figura 1).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Ejemplo de un equipo de Tomografía Computerizada de pequeño animal.

Para realizar un microTC se adquieren los datos volumétricos del ratón con una fuente de rayos X de baja energía (30-50 kV), en comparación con los equipos clínicos de humana (115-120 kV). Un detector rota alrededor del animal y genera las imágenes en 3 dimensiones que pueden ser analizadas posteriormente mediante cortes tomográficos, y permite la identificación de órganos, estructuras anatómicas y tumores de forma no invasiva, repetible y sin necesidad de sacrificar a los animales (3,4,5). A diferencia de la resonancia magnética (RM), la TC muestra pobre

contraste de los tejidos blandos adyacentes. Para mejorarlo, se administran sustancias de contraste que delimitan dichos órganos y aumentan la visibilidad de los diferentes tejidos. Los mejores órganos visualizados por TC son los pulmones, que tienen una densidad muy baja debida al aire que contienen (ver Figura 2), y los huesos que tienen una densidad muy alta.

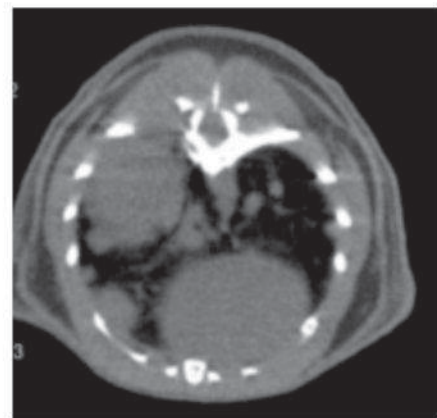


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Corte transaxial del tórax de una TC de un modelo transgénico de carcinoma pulmonar en el que se observan varios tumores de gran tamaño en pulmón derecho.

Las imágenes de microTC se registran en una cámara CCD de alta resolución (*Coupled-Charged Device*). El estudio de un animal completo a una resolución de 200 μm tarda alrededor de 15 minutos, aunque se pueden obtener resoluciones más altas de 50 μm incrementando el tiempo de escaneo. Hay que tener en cuenta, a la hora de planificar estudios longitudinales en un mismo ratón, que la radiación a la que se somete a los animales de experimentación no es despreciable, 0.6 Gy por CT a 200 μm de resolución, lo que equivale a un 5% de la dosis letal media, LD_{50} por ratón.

Los equipos microTC, al emitir radiación, deben estar ubicados en zonas controladas y están sometidos a inspecciones por el Consejo de Seguridad Nuclear. Todo el personal que trabaje

con este tipo de equipamiento se considera radioexpuesto y debe estar en posesión del título de operador de instalaciones radiactivas.

Los equipos de TC se utilizan también como parte de equipos híbridos en Medicina Nuclear conformando equipos PET-TC (Tomografía de Emisión de Positrones) y SPECT-TC (Tomografía de Emisión de Fotón Único), ya que proporciona la imagen anatómica de alta resolución de la que los equipos SPECT y PET carecen.

Imagen con Tomografía Computerizada (TC)

Los estudios con microTC son relativamente sencillos y, prácticamente, no requieren preparación previa de los animales. Para realizarlos es necesario mantener a los animales inmóviles bajo anestesia para evitar los artefactos en la imagen que produciría el movimiento. También es necesario mantener la temperatura corporal del ratón constante para prevenir las hipotermias debidas a la anestesia.

Como hemos mencionado, se pueden utilizar agentes de contraste exógeno para mejorar la ratio de la señal entre tejidos y, por lo tanto, entre los tumores y el tejido sano circundante. Los agentes de contraste aumentan la densidad del tejido. El contraste introduce un átomo pesado, proveniente de un metal, y en presencia de estos átomos pesados, se modifica la absorción de los rayos X que atraviesan los tejidos y órganos dando lugar a una imagen con mayor densidad y con menor ruido. La utilización de agentes de contraste se hace imprescindible en tejidos blandos y en los tumores que se localicen en estos tejidos (cerebro, hígado, músculo, etc.).

En humanos, se utilizan agentes de contraste solubles en agua, pero estas sustancias no se pueden utilizar en el ratón. El metabolismo más rápido del ratón junto con la velocidad de captación de imágenes de los equipos para animal pequeño son los motivos más importantes que impiden la utilización de estas sustancias. Los escáneres de pequeño animal todavía no son lo suficientemente rápidos capturando imágenes, comparándolos con los equipos clínicos, de manera que la adquisición en un ratón puede tardar bastante más del doble comparado con un estudio en un TC clínico de humana. Además, los contrastes utilizados en pacientes como el Iopamiro, se eliminan más rápidamente por el riñón de ratones (minutos en humanos y segundos en el ratón), no permitiendo tiempo suficiente del contraste en el organismo para

capturar las imágenes. Para solucionar este problema, se han desarrollado agentes de contraste específicos para pequeño animal con un aclaramiento renal más lento (6).

A continuación, se describe el protocolo que seguimos en la Unidad de Imagen Molecular del CNIO para hacer una microTC.

Material y Método

Todos los procedimientos realizados en los animales deben estar dentro de un proyecto que haya sido evaluado favorablemente por un órgano habilitado y haya sido aprobado por la Autoridad Competente.

Materiales:

- Equipo de Imagen: TC Locus de GEHC o TC eXplore Vista from GEHC.
- Lámpara de infrarrojos.
- Colchón con agua calefactada adaptado a la camilla de exploración del microTC y una bomba de calor que mantiene la temperatura constante del animal.
- Anestésicos: mesa de anestesia de isoflurano (Locus CT) y sevoflurano (eXplore Vista PET-CT) con cámara de inducción y mascarillas para la camilla del equipo.
- Jeringas de Tuberculina para inyección de contraste (1 ml).
- Aguja, gauge 30 (G30).
- Gel lubricante de ojos: 3.0 mg/ml carbomero en cloruro de benzalconio.
- Software: eXplore Vista PET-CT MMWKS para adquisición, procesado y análisis de imagen; o Microview software para Locus CT (7,8).

1. TC sin contraste

1.1. Preparación del animal: El animal no requiere preparación específica previa a la exploración. Para realizar la prueba, el animal es anestesiado con isoflurano, anestésico inhalatorio seguro, de rápida eliminación, e interferencia mínima con la investigación. Primero se realiza una inducción al 3-5% en cámara de inducción durante unos 3-5 minutos. Posteriormente, el animal es colocado en la camilla del TC, encima del colchón con agua calefactada, y conectado al equipo de anestesia inhalatoria donde el animal es mantenido a un 2% de isoflurano con un flujo de 0.5 l/minuto durante toda la adquisición. Antes de comenzar, se aplica el

lubricante corneal para evitar daños oculares en el animal.

1.2. **Selección de parámetros:** Antes de iniciar el estudio seleccionaremos el área de interés que va a ser escaneada y seleccionaremos los parámetros de energía y corriente que necesitamos para el correcto estudio de los diferentes órganos. Los parámetros estándar son los que se detallan a continuación:

- **Intensidad de corriente:** desde 140 a 1000 mA. Dependiendo de la densidad del tejido a escanear.
- **Número de disparos de rayos X:** desde 1 a 32, referido al número de rayos X emitidos desde el tubo. A más disparos, mayor ratio señal ruido en la imagen y como consecuencia, el estudio será de mejor calidad pero será más largo y produciremos una mayor radiación al ratón.
- **Resolución:** estándar (200 μm), alta (100 μm), o máxima (50 μm). La máxima tiene mayor calidad de imagen pero tarda más en adquirirse, por lo que se utilizará para estudios de zonas específicas, como por ejemplo una parte de un hueso (ver Figura 3).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Corte longitudinal de un fémur de ratón con un osteosarcoma y en el que se observa el crecimiento tumoral alrededor del hueso

- **Número de proyecciones:** Desde 360° a 720°. Refiriéndose a una rotación completa y a una doble rotación completa; en este caso, también alargamos el estudio con el número de proyecciones e incrementamos la radiación al ratón.
- **Número de camas/posiciones:** 1 a 3. Los avances del campo de estudio de imagen se miden en *bed positions*. Para hacer una TC de un órgano en un ratón es suficiente con una sola cama (*bed*). Si queremos hacer el cuerpo completo,

tendremos que utilizar 2 o 3 camas dependiendo del tamaño del animal. Hay que tener en cuenta que a mayor número de camas, existirá una mayor superposición entre ellas que puede dar lugar a artefactos donde se unen ambas camas.

- **Voltaje:** desde 30 a 80 kV. Cuando se realicen estudios de partes blandas es mejor poner el voltaje a 30 kV y para los estudios de huesos es mejor incrementarlo hasta 80 kV (ver Figura 4).

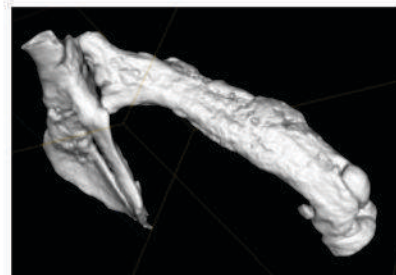


Imagen suministrada por la autoría

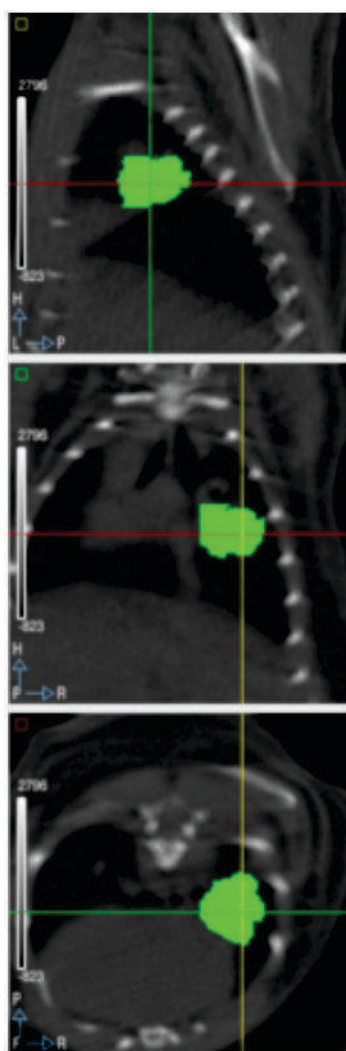
Figura 4.- Renderización en 3D de un fémur de ratón con un osteosarcoma. Se observa además, la articulación con la pala iliaca.

1.3. **Cuantificación:** Posteriormente se debe realizar una cuantificación. Una TC con adquisición estándar en ratón tendrá los siguientes parámetros: intensidad de 150 mA y voltaje de 45 kV, con resolución estándar (200 μm), 360° and 16 shots para 1 bed positions, 8 shots si vamos a hacer 2 bed positions.

1.4. **Gating/Sincronización respiratoria y cardiaca:** En los estudios cardiorrespiratorios, el animal debe ser monitorizado para medir la frecuencia respiratoria y cardiaca. Los artefactos debidos al movimiento respiratorio en estos estudios son muy importantes para detectar los tumores pulmonares. Se pueden obtener las señales tanto cardíacas como respiratorias y sincronizarlo con la adquisición de imágenes por parte del equipo TC. Tras la adquisición y durante el procesado de las imágenes, éstas se agrupan en sístole/diástole y espiración/inspiración. De esta manera se evitan los artefactos de movimiento.

1.5. **Reconstrucción:** Una vez terminada la fase de adquisición se debe realizar la reconstrucción. Las imágenes se reconstruyen utilizando una versión modificada de un algoritmo descrito por Feldkamp, Davis and Kress (FDK, 8), que está incluido en el software del equipo, empleando Regiones de Interés (ROI). Para ello, el tumor debe ser identificado en la imagen. Una vez

localizado, debemos dibujar un área de interés alrededor del perímetro del tumor y el software reconstruye un volumen que abarca las 3 dimensiones de ese tumor (ROI). El software emplea voxels cúbicos de este tamaño para definir la ROI $50 \times 50 \times 50 \text{ cm}^3$. Con este tamaño del voxel se puede calcular automáticamente el volumen del tumor en cc. (ver Figura 5).



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 5.- Ejemplo de ROI (en verde) en las diferentes proyecciones del TC para realizar la cuantificación tumoral. En la imagen se observa en verde el área de interés sobre un tumor pulmonar.

2. TC con contraste.

El agente de contraste debe ser administrado antes de la adquisición de la imagen. El contraste puede ser administrado por

diferentes vías: oral, intravenosa o intraperitoneal, dependiendo del órgano a estudiar. Por ejemplo, en estudios del aparato digestivo la vía oral es la indicada; sin embargo, en estudios hepáticos se puede utilizar el contraste intravenoso o intraperitoneal. Existen varios tipos de contrastes entre los que se encuentran:

- Lopamiro 300® Iopamidol (Bracco). Es un contraste no iónico soluble en agua. Este tipo de agentes son los más utilizados en clínica humana y presentan una baja toxicidad, incluso en estructuras delicadas como es el endotelio vascular y el cerebro.
- Fenestra™ VC and Fenestra™ LC (Alerion Biomedical). Se basa en emulsiones de lípidos yodados. Fenestra™ LC (LC, *liver contrast*) proporciona visualización del sistema hepatobiliar. Fenestra™ VC (VC, *vascular contrast*) es una variante del LC que proporciona un contraste superior a nivel de la vascularización, incluso después de horas de la inyección.
- Exia™ 160XL (Binitio Biomedical, Inc.). Exia™ 160XL es un colioide acuoso polidisperso con una permanencia prolongada en el *pool* sanguíneo.

Estos dos últimos contrastes son recomendados para estudio de vascularización (Fenestra y Exia) porque permanecen en el organismo más tiempo. Además, son de gran utilidad para equipos preclínicos pequeños que adquieren a menor velocidad. Teóricamente, Fenestra y Exia son de elección para animal pequeño porque tienen un aclaramiento renal más lento, aunque en nuestra experiencia, no proporcionan grandes ventajas y son mucho más caros que el lopamiro (9).

El protocolo de adquisición es el mismo que para la TC sin contraste.

DENSITOMETRÍA

Introducción a la densitometría

La densitometría, también conocida como DeXa (siglas de *Dual X ray absorciometry*), es la medición de la densidad de tejido óseo de manera no invasiva e *in vivo*. También se pueden obtener porcentajes de otros tejidos corporales, como el tejido graso y el tejido magro.

Los resultados que se obtienen en un estudio de densitometría incluyen la densidad mineral ósea (BMD *Bone Mineral Density*), la composición mineral ósea (BMC *Bone Mineral Composition*), la cantidad de tejido graso, la cantidad de tejido magro, y el porcentaje de ambos sobre el total (10,11,12).

Este tipo de estudios se utiliza principalmente en modelos de envejecimiento, obesidad, o metabolismo, para verificar las alteraciones en masa ósea (fundamentalmente osteoporosis) y la pérdida de grasa (caquexia) en los modelos tumorales (13,14,15,16).

El densitómetro es básicamente un equipo de rayos X que emite radiaciones a dos niveles energéticos diferentes, reguladas por un colimador hacia una pantalla de rayos X, donde una cámara CCD detecta la radiación. Ésta es procesada digitalmente y se representa como una imagen y unos valores numéricos.

El equipo informático realiza un procesamiento semiautomático de los datos, incluyendo la separación de tejidos blandos, la identificación de hueso y el posicionamiento de regiones de interés o ROI's (*Region Of Interest*). Teniendo un phantom calibrado con la absorbancia radiológica de cada tejido del organismo (datos de % grasa, BMD, BMC, área y porcentaje de desviación), se obtiene una imagen radiográfica del animal y unos valores de composición que varían en función de la absorción realizada de los rayos X emitidos.

El control de calidad del equipo debe realizarse a diario, antes de utilizar el densitómetro (2). Para su calibración deben realizarse disparos del tubo de rayos X sobre el phantom. Además, se recomienda realizar un chequeo cada vez que el aparato cambie de ubicación, recomendándose mantenerlo en ambientes controlados, con temperatura controlada y estable.

Manipulación de los animales

Al igual que el resto de estudios de imagen, en la densitometría se procede a la anestesia general de los animales para evitar el movimiento de los mismos durante la adquisición de las imágenes. En el centro, la anestesia se lleva a cabo mediante isoflurano, al 5% en inducción y 2% en mantenimiento, con un flujo de 0.5 l/minuto.

De la cámara de inducción se lleva el animal al equipo, donde se coloca con las extremidades separadas del cuerpo para evitar la

superposición de estructuras, que alterarían las mediciones. Se debe incluir dentro de la zona de exploración todo el cuerpo del animal, incluyendo la cola, aunque luego se descartará la cabeza para la realización de las mediciones, debido a la variabilidad en la densidad ósea que existe en el cráneo. Se aplica un gel oftálmico en los ojos para evitar la sequedad corneal. Los estudios son muy rápidos (4-5 minutos); posteriormente los animales se recuperan en sus cubetas respectivas.

Todos los procedimientos realizados en los animales deben estar dentro de un proyecto que haya sido evaluado favorablemente por un órgano habilitado y haya sido aprobado por la Autoridad Competente.

Análisis de los estudios

El análisis de los estudios se basa en la creación de dos ROI's, una de exclusión y otra de análisis. Se debe situar la de exclusión sobre el cráneo, para eliminarlo del análisis global. La ROI de análisis puede incluir el cuerpo completo, además de un hueso específico a estudiar (se suele utilizar el fémur o una vértebra). Los resultados obtenidos siempre incluyen los valores del animal completo (a excepción de la cabeza) y de la ROI seleccionada (ver Figura 6).

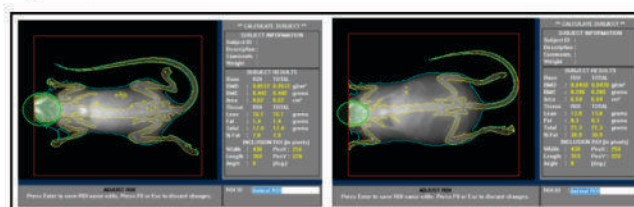


Imagen suministrada por la autoría

Figura 6.- Dos imágenes de análisis por densitometría. Se puede observar en el panel de la izquierda un ratón normal y en el panel de la derecha un ratón obeso, con los diferentes resultados numéricos obtenidos en el análisis densitométrico. También se aprecia la ROI de exclusión en color verde, sobre la cabeza de los animales.

CONCLUSIONES

La TC y la densitometría son técnicas de imagen que pueden ser utilizadas en investigación preclínica, reduciendo el número de animales de los experimentos y aportando información muy valiosa en el desarrollo de estudios longitudinales.

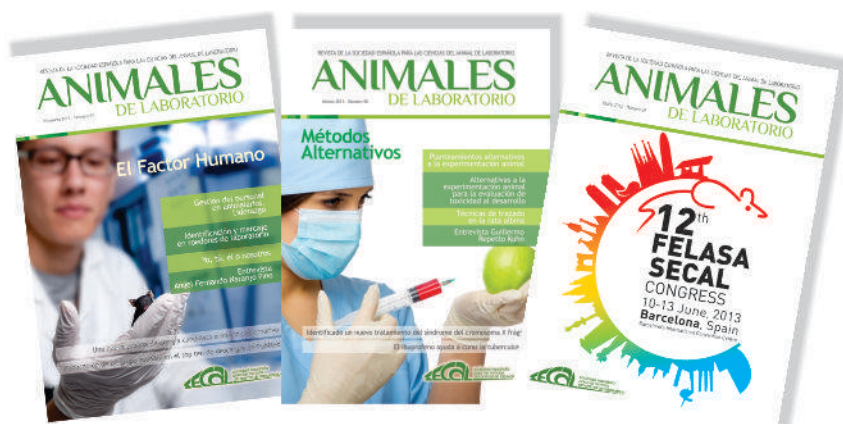
BIBLIOGRAFÍA

- Dendy P., and Heaton B. 1999. *Tomographic imaging*. In P. Dendy and B. Heaton (Eds.), *Physics for diagnostic Radiology*. Institute of Physics, Bristol, UK, 1999, 249-78.
- Dilmanian F.A., Wu X.Y., Parsons E.C., et al. *Single- and dual-energy CT with monochromatic synchrotron X-rays*. *Phys. Med. Biol.* 1997, 42:371-87.
- Paulus M.J., Gleason S.S., Easterly M.E., et al. *A review of high-resolution X-ray computed tomography and other imaging modalities for small animal research*. *Lab. Anim.* 2001, 30:36-45.
- Berger F., Lee Y.-P., Loening A.M., et al. *Whole body skeletal imaging in mice utilizing microPet: optimization of reproducibility and applications in animal models of bone disease*. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002, 29(9):1225-36.
- Holdsworth D.W., and Thornton M.M. *Micro-CT in small animal and specimen imaging*. *Trends Biotechnol.* 2002, 20:S34-S39.
- Mulero F., Donate L.E., and Serrano M. *Imaging Cancer in Mice by PET, CT, and Combined PET-CT*. *Curr. Protoc. Mouse Biol.* 2011, 1:85-103.
- Pascau J., Vaquero J.J., Abella M., et al. *Multimodality workstation for small animal image visualization and analysis*, *Molecular Imaging and Biology* 2006, 8:97-8.
- Vaquero J.J., Redondo S., Lage E., et al. *Assessment of a new high-performance small-animal X-ray tomography*. *IEEE Transactions on Nuclear Science* 2008, 55: 898-905.
- Velasco C., de Francisco A., Andrés E., et al. *Comparative assessment of contrasting agents for small animal micro CT*. *Proceedings of SECAL*. 2009, 96-7.
- Binkley N., Dahl D.B., Engelke J., et al. *Bone loss detection in rats using a mouse densitometer*. *J Bone Miner Res.* 2003, 18(2):370-5.

Johnston S.L., Peacock W.L., Bell L.M., et al. *PIXImus DXA with different software needs individual calibration to accurately predict fat mass*. *Obes Res.* 2005, 13(9):1558-65.
- Kolta S., De Vernejoul M.C., Meneton P., et al. *Bone mineral measurements in mice: comparison of two devices*. *J Clin Densitom.* 2003, 6(3):251-8.
- Murray S.S., Duarte M.E., and Brochmann E.J. *The effects of dietary restriction on humeral and mandibular bone in SENCAR, C57BL/6, and DBA/2 mice*. *Metabolism.* 2003, 52(8):970-7.
- Nagy T.R. and Clair A.L. *Precision and accuracy of dual-energy X-ray absorptiometry for determining in vivo body composition of mice*. *Obes Res.* 2000, 8(5):392-8.
- Smith E.R., Yeasky T., Wei J.Q., et al. *White spotting variant mouse as an experimental model for ovarian aging and menopausal biology*. *Menopause.* 2012, 19(5):588-96.
- Soon G., Quintin A., Scalfio F., et al. *PIXImus bone densitometer and associated technical measurement issues of skeletal growth in the young rat*. *CalcifTissue Int.* 2006, 78(3):186-92.

**ANÚNCIATE
EN ANIMALES
DE LABORATORIO
LA REVISTA DE
LA SECAL**

publicidad.revista@secal.es



**MÁS DE 400 SOCIOS
RELACIONADOS CON EL SECTOR
DE LOS ANIMALARIOS.**

Imagen óptica en animales de laboratorio

J.A. Cámara¹, S. Sánchez¹, E. Andrés¹, I. Blanco² y F. Mulero¹

¹ Unidad de Imagen Molecular, ² Unidad de Animalario
Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid

IMAGEN ÓPTICA

La imagen óptica está basada en el uso de fotones de luz para la obtención de imágenes (ver Figura 1). La cuantificación de la señal emitida se realiza mediante una cámara detectora de fotones o CCD (*Charged Coupled Device*). Sus detectores están hechos de cristales de silicón que permiten detectar fotones de luz en el rango de la luz visible casi infrarrojo con niveles de energía muy bajos (1).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Equipos de imagen óptica IVIS, de PerkinElmer. Imagen del equipo completo (izquierda) y detalle de la cabina de exploración (derecha). Ambas imágenes obtenidas del manual de usuario del equipo.

Las imágenes se muestran normalmente en una escala de color superpuestas a una imagen fotográfica en una escala de grises.

Las principales ventajas de esta técnica son: la monitorización no invasiva del desarrollo tumoral, la rápida adquisición (normalmente 10-20 segundos), el fácil manejo de los equipos y la capacidad de obtener imágenes de varios animales a la vez (2). Además, al no tratarse de equipos radiactivos no necesitan estar en una zona controlada ni es necesario estar en posesión de titulación específica.

Sin embargo, uno de los problemas más importantes de la luz es que los fotones se atenúan al atravesar los diferentes tejidos. La eficiencia de la transmisión de luz depende de la longitud de onda de ésta (más eficiente por encima de 600 nm), del tipo de tejido atravesado y su grado de dispersión (1,2). En los animales de experimentación, por ejemplo el ratón, al no tener tejidos muy gruesos, la luz es capaz de atravesarlos y se pueden obtener imágenes de buena calidad con un mínimo emborronamiento debido a la atenuación de los fotones de luz.

La cuantificación de los resultados en ambos tipos de estudio (bioluminiscencia y fluorescencia) se puede realizar utilizando varias unidades, incluyendo cuentas, fotones y eficiencia. Esta última es la más utilizada en el ámbito científico, manejando valores normalizados y calibrados, que pueden ser comparados sin tener en cuenta el equipo utilizado y corrigiendo por diferentes parámetros, como el tiempo de exposición, la agrupación (*binning*) utilizada o las dimensiones del campo de exploración.

La técnica ha sido desarrollada para su uso en biología celular y molecular *in vitro*. Para los estudios *in vivo*, podemos utilizar las técnicas de bioluminiscencia y fluorescencia.

Bioluminiscencia

Se basa en la detección de luz generada en animales que contienen el gen de la luciferasa. Estos genes se encuentran espontáneamente en animales como la luciérnaga (familia *Lampyridae*) o medusas del género *Renilla* (3), y pueden ser introducidos mediante técnicas de ingeniería genética en diferentes células de interés - por ejemplo, células tumorales o *stem cells* (4) - que posteriormente serán inoculadas en el animal de laboratorio. La energía lumínica se produce al interactuar con un sustrato óptico inyectado - D-luciferina (5).

En el mercado, se pueden encontrar diferentes líneas de ratón con el gen de la luciferasa incluido en numerosos tipos celulares. Como ejemplo, podemos citar el FVB/N-Tg (Ins1-luc) VUPwrs/J, de Jackson Laboratory (6). Esta línea se vende con un inserto del gen de luciferasa incluido en el promotor MIP de la insulina. Al inyectar luciferina, se produce una expresión bioluminiscente que emana de las células B de los islotes pancreáticos. La señal lumínica es proporcional al número de islotes pancreáticos, con lo que mediante la cuantificación de la misma se puede obtener una aproximación al número de islotes pancreáticos presentes.

En ese momento pueden obtenerse las imágenes de bioluminiscencia con una cámara CCD, mostrando la localización y distribución de las células de interés en el animal *in vivo* (7).

La ventaja más importante de la técnica de bioluminiscencia es que es muy específica y sólo emiten luz las células que expresan el gen de la luciferasa, por lo que no presenta actividad de fondo y permite detectar señales de muy pequeña intensidad (elevada sensibilidad, 8), como podemos observar en la Figura 2.

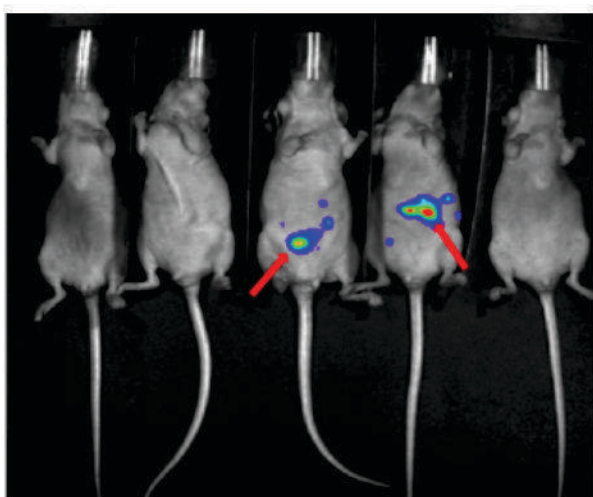


Imagen suministrada por la autoría

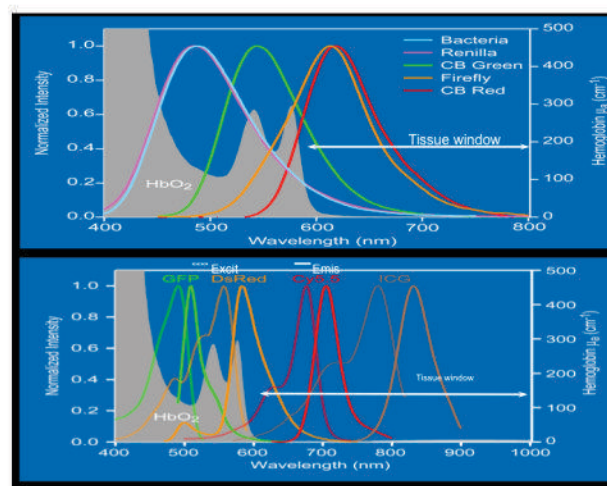
Figura 2.- Bioluminiscencia en un grupo de ratones *Nude* en un modelo ortotópico de tumor mamario. Se observa señal en el tumor (flechas rojas) que contiene las células que expresan luciferasa, sin señal de fondo en la imagen.

Fluorescencia

En la imagen mediante fluorescencia se marcan diferentes moléculas (anticuerpos, péptidos, etc.) con proteínas fluorescentes, como por ejemplo la proteína verde fluorescente

(GFP Green fluorescent protein) obtenida de la medusa *Aequorea victoria* (9). Una vez introducidas en el animal, un haz de fotones de excitación, con una longitud de onda específica, ilumina el ratón y la cámara CCD detecta la señal lumínica emitida por las proteínas fluorescentes en una longitud de onda diferente a la inicial, permitiendo de este modo localizar la distribución de las moléculas inyectadas (10).

La ventaja principal de la imagen mediante fluorescencia es su utilización en el marcaje celular/molecular tanto *in vivo* como *in vitro*, y el hecho de que no necesita de la inyección-reacción de un sustrato óptico para su visualización. Como desventajas, esta técnica presenta las mismas que la bioluminiscencia (atenuación de la luz por parte de los tejidos) con un problema adicional debido a la inherente autofluorescencia de las sustancias de las que se alimenta o de la sangre, etc. (se incrementa a longitudes de onda menores de 600nm). Esta autofluorescencia se encuentra en casi todos los materiales, incluyendo superficies plásticas o tejidos biológicos (ver Figura 3). El poliestireno negro es el material más adecuado para utilizarse como soporte en estudios *in vivo* para evitar la fluorescencia de los diferentes materiales.



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 3.- Autofluorescencia de la hemoglobina y su superposición con las diferentes longitudes de onda en luminiscencia (superior) y fluorescencia (inferior). Imagen tomada del manual técnico de *Living Image Software*. Versión 2.6

La autofluorescencia de los tejidos biológicos es incluso mayor que la de los materiales inertes y es uno de los factores más limitantes en los estudios de fluorescencia *in vivo*. La hemoglobina, la clorofila de la dieta e incluso el agua, son fuentes de autofluorescencia frecuentes en los estudios en el animal de

laboratorio. Especialmente en roedores, es importante tener en cuenta este factor para elegir el fluoróforo que administrar, ya que su longitud de onda deberá encontrarse en lo que se denomina ventana del *in vivo* (ver Figura 4).

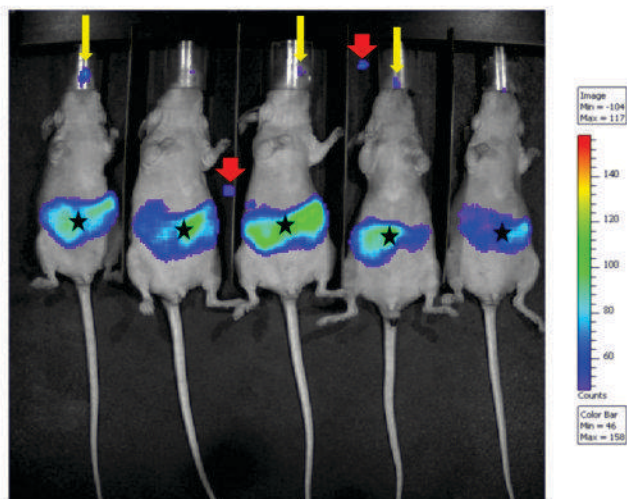


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Ejemplos de autofluorescencia en ratones *nude*. Se pueden apreciar señales inespecíficas en los conos de anestesia (flechas amarillas), así como en partículas de suciedad (flechas rojas). También aparece señal inespecífica intraabdominal correspondiente a contenido digestivo (asteriscos negros).

Manejo de los animales

La manipulación que se hace de los animales en esta técnica de imagen es bastante sencilla. Como todas las técnicas de imagen, se realizan con el animal anestesiado, para evitar el estrés de la inmovilización. En el CNIO se lleva a cabo una anestesia inhalatoria con Isoflurano (Isoflo®, Abbott) al 4% en inducción, y 2% en mantenimiento. Además, se depilará generosamente la zona a estudiar para reducir la posible absorción de la luz por parte del pelo, sobre todo en los animales de capas oscuras.

En los estudios de fluorescencia no se necesita mayor manipulación. En los estudios de bioluminiscencia, se debe realizar una inyección intraperitoneal de luciferasa, previamente al comienzo del estudio, para que ocurra la reacción química que provocará la emisión de luz. El volumen a inyectar viene determinado por la concentración de la enzima.

Tras la realización del estudio, los animales se depositan en su cubeta y su recuperación no suele requerir mucho tiempo. Mientras que en la fluorescencia no hay periodo de espera para la

repetición de estudios, en la bioluminiscencia pueden volver a realizarse pasadas 24 horas.

Todos los procedimientos de imagen óptica están aprobados por la Autoridad Competente.

CONCLUSIONES

La Imagen Óptica es una técnica de imagen que puede ser utilizada en investigación preclínica en multitud de situaciones, reduciendo el número de animales de los experimentos y aportando información valiosa no invasiva en el desarrollo de estudios longitudinales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rehemtulla A., Stegman L.D., Cardozo S.J., et al. *Rapid and quantitative assessment of cancer treatment response using in vivo bioluminescence imaging*. *Neoplasia* 2000, 2:491-5.
2. Luker G.D. and Luker K.E. *Optical imaging: current applications and future directions*. *J Nucl Med*. 2008, 49(1):1-4.
3. Bhaumik S. and Gambhir S.S. *Optical imaging of Renilla luciferase reporter gene expression in living mice*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99: 377-82.
4. Branchini B.R., Ablamsky D.M., Davis A.L., et al. *Red-emitting luciferases for bioluminescence reporter and imaging applications*. *Anal Biochem* 2010, 396:290-7.
5. Inoue Y., Kiryu S., Watanabe M., et al. *Timing of imaging after d-luciferin injection affects the longitudinal assessment of tumor growth using in vivo bioluminescence imaging*. *Int J Biomed Imaging* 2010, 471408.
6. The Jackson Laboratory mice database. <http://jaxmice.jax.org/strain/007800.html>
7. Zinn K.R., Chaudhuri T.R., Szafran A.A., et al. *Noninvasive bioluminescence imaging in small animals*. *ILAR J*. 2008, 49 (1):103-15.
8. Cui K., Xu X., Zhao H., et al. *A quantitative study of factors affecting in vivo bioluminescence imaging*. *Luminescence* 2008, 23:292-5.
9. Hoffman RM. *In vivo imaging of metastatic cancer with fluorescent proteins*. *Cell Death Differ*. 9 (8):786-9. 2002
10. Leblond F., Davis S.C., Valdés P.A., et al. *Pre-clinical whole-body fluorescence imaging: Review of instruments, methods and applications*. *J Photochem Photobiol B*. 2010, 98 (1):77-94.

Imagen por tomografía de emisión de positrones (PET) en animal de laboratorio

E. Andrés¹, S. Sánchez¹, J.A. Cámara¹, I. Blanco² y F. Mulero¹

¹ Unidad de Imagen Molecular, ² Unidad de Animalario
Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Madrid

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de imagen molecular aportan información muy valiosa, mediante métodos no invasivos, acerca de la fisiología de organismos vivos y sus cambios debidos a patologías. La Tomografía por Emisión de Positrones (PET) aporta datos metabólicos y moleculares con una alta sensibilidad, y en asociación con la Tomografía Computarizada (CT) o con la Resonancia Magnética (RM), las posibilidades de diagnóstico se incrementan exponencialmente. En investigación oncológica, la imagen molecular presenta como objetivos principales identificar las diferentes vías metabólicas tumorales y sus cambios a nivel molecular y celular, el comportamiento del microentorno tumoral, aparición de nuevos vasos, estroma, etc. Además, es posible el análisis y la cuantificación del efecto de fármacos terapéuticos en estudios longitudinales por medio de técnicas de imagen molecular. Mediante el uso de la tecnología PET se pueden realizar experimentos en el mismo animal de forma no cruenta, disminuyendo el número de animales necesarios para obtener buenos resultados experimentales. El objetivo de la presente revisión es resumir los principios y los hallazgos más recientes en la imagen molecular mediante PET, y su aplicación preclínica en investigación oncológica. Se resaltarán las bases teóricas de la técnica y las principales aplicaciones.

TOMOGRAFÍA DE EMISIÓN DE POSITRONES (PET)

La imagen molecular se ha desarrollado ampliamente durante la última década y se ha convertido en una herramienta esencial en investigación preclínica. Con el uso de las técnicas de imagen molecular, los estudios han podido trasladarse de una manera rápida desde las líneas celulares experimentales a los modelos animales y al campo clínico. El seguimiento de un gen, o la identificación de un metabolito, son ahora posibles mediante la utilización de las herramientas de imagen molecular disponibles, de manera aislada o en combinación (1). Los estudios PET de pequeño animal con el desarrollo de equipos híbridos PET y CT

(ver Figura 1) han cambiado la forma de realizar la experimentación *in vivo* y los estudios longitudinales.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.-Equipo PET-CT de pequeño animal.

El papel de la imagen molecular en investigación oncológica se ha incrementado con la posibilidad de crear o modificar sondas de imagen para los diferentes procesos a estudiar. Estas sondas se unen de manera específica a una molécula, vía metabólica, célula, tejido u órgano y son esenciales para el entendimiento de los mecanismos moleculares, o la farmacocinética de un compuesto en desarrollo, tanto en la fase preclínica como en la de ensayo clínico. Los radioisótopos emisores de positrones, en el caso del PET, unidos a moléculas específicas, nos servirán para obtener una imagen en tiempo real de lo que está ocurriendo en el tumor a nivel molecular (2).

La detección de tumores, así como el seguimiento de los diferentes tratamientos mediante PET, es una parte importante en la investigación preclínica y clínica. El estudio PET es una técnica no invasiva que permite el seguimiento de los tumores a lo largo del tiempo, y aporta información cuali- y cuantitativa a niveles molecular y celular en estudios *in vivo*, tanto en una estructura concreta como en un organismo completo (1,2).

Bases técnicas de la PET

La base física de la imagen por PET es la emisión de rayos γ de alta energía por parte de un radioisótopo, y su detección por la cámara PET. Tras la administración de un radiofármaco PET (ver Figura 2), el radioisótopo emite positrones que se aniquilan espontáneamente tras su colisión con electrones cercanos, produciendo dos fotones de igual energía (511 eV), con la misma dirección pero con sentidos opuestos. Los fotones emitidos sensibilizan un cristal de centelleo. La detección simultánea de estos pares de fotones se realiza mediante detectores de coincidencia que, en base a algoritmos de reconstrucción, permiten obtener finalmente una imagen con la localización y concentración del radiofármaco administrado (2,3).

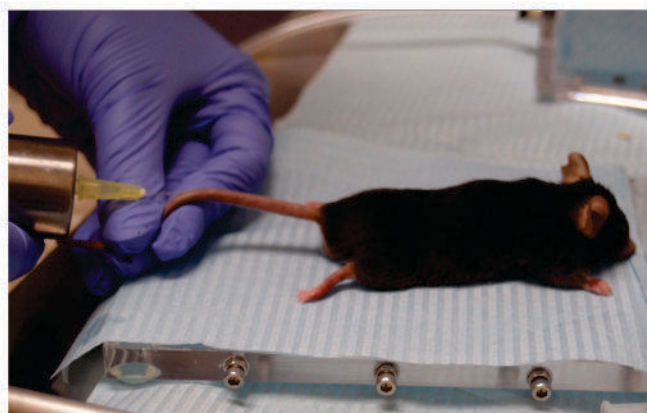
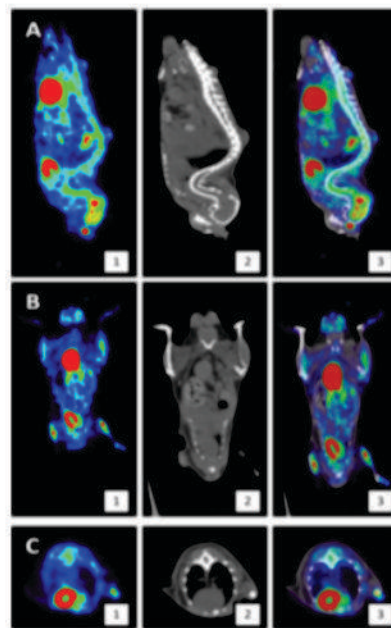


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Manipulación, preparación e inyección de los ratones para un estudio PET.

La escasa información anatómica que aporta la PET se puede corregir combinando esta técnica con la TC, con la que además se pueden obtener los valores necesarios para corregir la atenuación de los fotones del PET. También se puede combinar con la RM; en este caso, la corrección de atenuación es más compleja. La realización de ambas técnicas de manera simultánea o consecutiva confiere al estudio PET un valor anatómico añadido (ver Figura 3).



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 3.- Ejemplo de estudio PET-CT con ^{18}F -FDG en un modelo de melanoma. Fila A proyección sagital de los estudios PET (1), microCT (2) y el corregistro de ambas (3). Las filas B y C corresponden a las proyecciones coronal y axial de los mismos estudios PET, microCT y corregistro.

Radiofármacos y radioisótopos más utilizados en imagen PET oncológica

Los radioisótopos pueden ser producidos en ciclotrones (por ejemplo ^{11}C , ^{18}F , ^{68}Ga , ^{13}N , ^{15}O , ^{38}K , ^{86}Y) o en generadores (^{62}Cu , ^{82}Rb , ^{68}Ga), y se unen a moléculas biológicas convirtiéndolos en radiotrazadores o radiofármacos (3,4). Estos complejos son capaces de reportar información acerca del tumor, proceso metabólico o biológico, así como diagnosticar, detectar y confirmar la respuesta tumoral al tratamiento. La mayoría de los radioisótopos utilizados en PET tienen una semivida corta (^{18}F (2h) ^{11}C (20 min) ^{15}O (2 min)- por lo que el ciclotrón que los produce debe estar emplazado a poca distancia del equipo PET. Ésta es una de las limitaciones de esta técnica, la dependencia externa. El uso de generadores de menor coste y que puedan instalarse en cualquier instalación radiactiva autorizada, aumenta la disponibilidad de estos isótopos obtenidos de generador y abarata los costes de producción y transporte, evitando la pérdida de actividad durante el desplazamiento. Sin embargo, el uso de estos isótopos de semivida corta hace que la exposición radioactiva en pacientes sea baja. Isótopos con una semivida relativamente larga, como el ^{86}Y (2-3 días) o el ^{124}I (4,18 días), permiten la adquisición de estudios post-administración más

largos, algo importante en la evaluación de protocolos farmacocinéticos.

La ¹⁸F-Fluorodeoxiglucosa (¹⁸F-FDG) es el radiofármaco más usado en el diagnóstico clínico de cáncer y en los estudios preclínicos en oncología debido a la gran demanda metabólica de los tumores malignos, el efecto Warburg (5). Este compuesto, análogo de la glucosa, es captado por los tumores debido a su gran avidéz glicídica. Tras la captación, la ¹⁸F-FDG se fosforila por la enzima hexokinasa y es atrapada en la célula sin difundirse al medio extracelular, ya que en la membrana celular no se transporta la forma fosforilada. Posteriormente, la eliminación de la ¹⁸F-FDG se realiza lentamente, mediante un proceso gradual de defosforilación. La captación de ¹⁸F-FDG permite diferenciar entre tumores benignos y malignos, algo fundamental en los estudios oncológicos; sin embargo, los tejidos inflamados pueden dar falsos positivos debido a un incremento en su metabolismo. Existen órganos con un elevado metabolismo basal de glucosa (cerebro, miocardio, grasa parda, medula ósea) y órganos que tienen una elevada señal debido a la eliminación del radiofármaco (vejiga, riñones, vesícula biliar). Para evitar los falsos positivos en un estudio PET hay que conocer la biodistribución del radiofármaco (ver Figura 4).

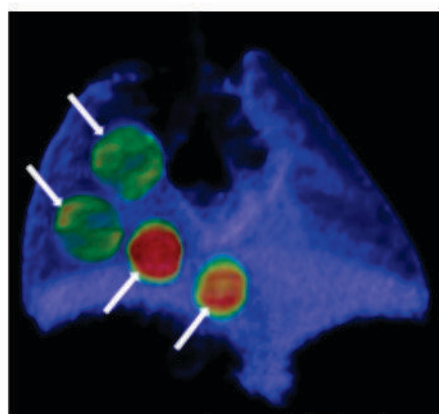


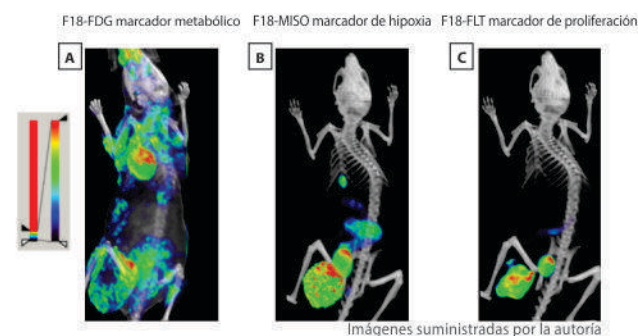
Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Reconstrucción tridimensional de un estudio PET con ¹⁸F-FDG en un modelo de cáncer pulmonar. Las flechas señalan el incremento de actividad metabólica en carcinomas pulmonares.

Existen además otras limitaciones en la imagen por ¹⁸F-FDG, como son los tumores poco metabólicos o con una ratio señal/fondo demasiado baja (cáncer de próstata y neuroendocrinos). En estos casos, el desarrollo de nuevos radiofármacos más específicos se ha convertido en algo crucial. Como ya se ha comentado, la visualización de tumores

prostáticos con ¹⁸F-FDG no es idónea. Para este tipo de tumor se han desarrollado radiotrazadores con ¹⁸F, ¹¹C-Colina o ¹¹C-Acetato (6). El mecanismo de acumulación del acetato se basa en la conversión del mismo en ácidos grasos por la enzima sintetasa de ácidos grasos, la cual está sobreexpresada en las células tumorales. No tiene eliminación por vía renal y no hay acumulación en vejiga, por lo que la visualización de la próstata es más fácil. También se utiliza en tumores de hígado, páncreas y pulmonares (7). La base del uso de colina marcada en la visualización de tumores prostáticos se basa, a diferencia del anterior, en el hecho de que este tipo de tumor está relacionado con el metabolismo de los fosfolípidos. La captación de colina se observa en tumores primarios y en ganglios metastásicos (8).

El marcaje de **FLT (3'-deoxi-3'- fluorotimidina)** con ¹⁸F permite la visualización de la proliferación celular tumoral; la estructura química de FLT es un análogo de la pirimidina y comparte sus rutas metabólicas. Tras la fosforilación de la molécula por parte de la timidin-kinasa, queda atrapada dentro de las células en proliferación. En estudios *in vivo*, se ha demostrado que, en comparación con la ¹⁸F-FDG, la ¹⁸F-FLT se distribuye en menor medida en los tejidos inflamatorios, aunque también se demuestra que la captación por parte de los tejidos tumorales es menor que la de la ¹⁸F-FDG (9). Aunque su uso clínico de rutina no se ha aprobado todavía, existen estudios preclínicos y clínicos que demuestran la utilidad de la ¹⁸F-FLT en carcinoma esofágico, glioma, linfoma, tumor de mama o sarcoma (10,11,12,13,14; ver Figura 5).



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 5.- Imágenes de estudios PET-CT del mismo animal con diferentes radiofármacos en un modelo transgénico de cáncer de mama. A: ¹⁸F-FDG como trazador metabólico. B: ¹⁸F-MISO como trazador de hipoxia. C: ¹⁸F-FLT como trazador de proliferación celular.

La hipoxia tumoral es un estado que se observa en diferentes tipos de tumor, como los carcinomas de células escamosas, los gliomas, sarcomas, tumores mamarios y de páncreas o tumor de

pulmón. La aparición de hipoxia en tumor hace que sea más resistente a la quimio y radioterapia estándar, y además incrementa su agresividad. La visualización de la hipoxia tumoral *in vivo* puede hacerse mediante radiotrazadores como el **¹⁸F-MISO (fluoromisonidazol)**, ¹⁸F-FAZA ([¹⁸F](1-(5-fluoro-5-deoxi-alpha-D-arabinofuranosil)-2-nitroimidazol), ¹⁸F-FAZA, ¹⁸F-FETNIM ([¹⁸F]fluoroeritronitro-imidazol) o Cu-ATSM ([⁶⁴Cu]Cu-diacetil-bis (N⁴-metiltiosemicarbazona). El más utilizado es el ¹⁸F-MISO que queda atrapado junto a macromoléculas cuando la presión de O₂ tisular es menor de 10mm de Hg, aunque incluso algunos autores indican un nivel de <3mm de Hg (15). La imagen del tejido hipóxico depende del ratio de la enzima nitroreductasa, que reduce el grupo NO₂ del anillo imidazol del ¹⁸F-MISO. Esta enzima disminuye su actividad en situaciones de hipoxia. La limitación principal del ¹⁸F-MISO es su baja señal tumor-fondo (16; ver Figura 5).

Las metástasis óseas pueden ser detectadas usando **Fluoruro sódico, ¹⁸F-NaF**. El fluoruro se incorpora dentro de los cristales del hueso, formando fluoroapatita y la captación de radiotrazador en el tumor es visible en regiones con densa esclerosis (17). Las metástasis óseas pueden explorarse mediante la gammagrafía ósea convencional, aunque el PET con ¹⁸F-FDG es mucho más sensible y puede utilizarse para visualizar metástasis tanto osteoblásticas como osteolíticas (18).

El mayor reto en imagen molecular oncológica se presenta en los estudios de oncología cerebral. La ¹⁸F-FDG no es un radiofármaco apropiado para el diagnóstico y valoración de la efectividad terapéutica, debido a la alta captación del tejido cerebral sano e inflamado tras la cirugía/radioterapia. Los radiotrazadores basados en aminoácidos marcados con ¹¹C pueden ser útiles en gliomas, como por ejemplo la **¹¹C-Metionina** o la **¹¹C-Colina**.

Los tumores neuroendocrinos, caracterizados por la expresión de receptores de somatostatina, pueden ser visualizados usando radiotrazadores basados en esta molécula. Además, estos tumores neuroendocrinos no siempre presentan un incremento en el metabolismo de la glucosa, por lo que el uso de la ¹⁸F-FDG no está recomendado (4, 19). Actualmente se usan los análogos de somatostatina marcados radioactivamente y se construyen en base a un radionúclido ligado a la somatostatina mediante un ligando (DOTA o DTPA). Varios radiofármacos pueden ligarse a estos análogos, como el ¹¹¹In, ⁹⁰Y, Tyr³ o ⁶⁸Ga, ¹⁷⁷Lu. El radiofármaco que actualmente se está utilizando en ensayos

clínicos es el **⁶⁸Ga-DOTATOC**. Una de las ventajas de este radiofármaco es que además de su especificidad para los receptores de somatostatina, el isotopo que se utiliza (el ⁶⁸Ga) se produce en un generador de ⁶⁸Ge-⁶⁸Ga que puede instalarse en el mismo hospital sin depender del ciclotrón (20).

En el intento de marcaje radioactivo de las integrinas, glicoproteínas relacionadas con la adhesión celular e influyentes en el crecimiento tumoral, grado de metástasis y capacidad de invasión, se utiliza un marcador denominado **¹⁸F-galacto-RGD** que posee una alta especificidad hacia la integrina α_vβ₃. En estudios preclínicos en melanomas, los resultados presentan una elevada ratio tumor/fondo. Sin embargo, la excreción del radiofármaco por vía urinaria dificulta su uso para estudios de próstata, o vías urinarias bajas (21).

Otro radiofármaco con alta especificidad es el **¹⁸F-Estradiol** (16α-[¹⁸F] fluoro-17β- Estradiol), utilizado como marcador de receptores estrogénicos (ER) en tumores mamarios. Su alta afinidad por los receptores Era y su alto contraste señal/fondo, permite predecir las respuestas tumorales a terapia endocrina en cáncer de mama (22).

Protocolo de exploración PET en imagen preclínica

Tras pesar los animales y calentarlos bajo una lámpara de infrarrojos, para producir una vasodilatación periférica, se procede a anestesiarnos mediante anestesia inhalatoria, con un metabolismo únicamente pulmonar por lo que tiene menores efectos secundarios y una rápida recuperación. Se realiza una inducción del 5% de Sevoflurano con un mantenimiento 4.9% en 1.5L de O₂ y se administra la dosis de radiofármaco que sea necesario para cada tipo de estudio PET. Mientras el animal permanece anestesiado, se protegen las corneas con gel oftalmológico para evitar lesiones por la inhibición del parpadeo.

Tras la inyección y durante el periodo de captación del radiofármaco, los animales se sitúan tras un panel blindado para evitar la exposición del personal de la unidad a la radiación del animal (3). Durante este tiempo, los animales pueden estar dormidos, como en el caso de la ¹⁸F-FDG, para evitar el consumo de glucosa por parte de los músculos por el movimiento del animal, o despiertos, como en el caso del ¹⁸F-MISO en el que no existe variación en la captación por estar dormidos o despiertos.

La colocación de los animales en la cámara PET es muy importante para evitar movimientos de la imagen y alteraciones del correjistro entre las imágenes del PET y el CT. El conseguir una inmovilización adecuada garantiza que el estudio sea óptimo. La camilla del equipo PET está dotada con un colchón relleno de agua calefactada para mantener en todo momento la temperatura del animal y evitar la hipotermia tan frecuente en ratones durante la anestesia.

Finalizada la exploración PET, el animal vuelve a su cubeta tras un periodo de recuperación en el que se controla la temperatura con una lámpara de infrarrojos. La cubeta se coloca en un rack blindado situado en las instalaciones de la unidad de imagen, donde se mantiene durante la noche para que la actividad de la ^{18}F -FDG decaiga por completo y sean devueltos el día siguiente al investigador o responsable. En el caso de sufrir alguna baja, el cadáver se deja dentro de una nevera, en una caja de metacrilato blindada, y se manipula como un material radiactivo.

Los valores estándar de un estudio PET son:

- Dosis de radiofármaco inyectada: depende del radiofármaco a estudiar; por ejemplo, alrededor de 14 MBq en el caso del ^{18}F -FDG o 37 MBq en el caso del F18-MISO. Se mide la actividad de la jeringa que contiene el radiofármaco antes y después de la inyección y se asume que la diferencia de ambos valores es la dosis inyectada.
- Periodo de captación: varía también en función del radiofármaco. Por ejemplo, 45 minutos en un estudio de ^{18}F -FDG o ^{18}F -FLT, y 3-4 horas en un estudio de ^{18}F -MISO.
- Adquisición del estudio en el equipo PET: Suele ser de 10-30 minutos de duración dependiendo de las zonas (número de camas/posiciones PET) a estudiar y del radiofármaco a estudio. En el caso de radiofármacos con baja señal tumor fondo (^{18}F -MISO) se puede incrementar el tiempo de adquisición y reducir la zona de estudio a una sola posición PET. Si se requiere valorar metástasis a distancia, siempre habrá que realizar estudios de cuerpo completo adaptando los tiempos.
- La reconstrucción de los estudios PET, análisis y cuantificación también es dependiente del radiofármaco a estudiar, el tipo de tumor y la localización para obtener la mejor ratio tumor fondo (ver Figura 6)



Imagen suministrada por la autoría

Figura 6.- Render en 3D de un PET-CT con FDG en un modelo de cáncer de mama transgénico. Se visualizan tumores en color en los diferentes grupos mamarios (cervicales, torácicos e inguinales).

Cuantificación de estudios en imagen PET

Para la cuantificación de los estudios PET existen modelos matemáticos que permiten determinar la actividad metabólica, la biodistribución de un fármaco, o su farmacocinética. El parámetro semicuantitativo más utilizado es el valor de captación estandarizado (en inglés SUV), que se define por la formula:

$$SUV = \frac{r}{a' / w}$$

Donde r es la concentración de radiofármaco (MBq/mL), medida en el área de interés seleccionada, a' es la cantidad de radiotrazador inyectado corregido por su decaimiento (MBq), y w es el peso de la muestra (g) (23).

El valor SUV muestra la actividad en una zona de la imagen dependiendo del peso del paciente/muestra y la dosis inyectada. La valoración de la respuesta a un tratamiento se realiza comparando los valores SUV pre y post-tratamiento. El valor de SUV máximo (SUVmax), que se define como el pixel que contiene el valor máximo en el área de interés, provee de una menor variabilidad interobservador que el promedio del SUV (SUVmean) (24).

En estudios de pequeño animal en los que el peso no es tan importante, ya que no hay cambios notables a consecuencia del tratamiento quimioterápico, se puede calcular %ID/L (% Dosis inyectada/Litro) y las muestras de tejido se pueden pesar y medir su radiactividad. Esta radiactividad se divide por el volumen de la muestra para calcular la concentración (Bq/mL). A su vez, la concentración radiactiva se divide por la dosis inyectada y se multiplica por 100, siendo el resultado el porcentaje de la dosis inyectada por volumen de tejido (%ID/ml).

Especificaciones de la instalación para imagen PET

Las medidas de radioprotección con las que cuentan las unidades de imagen molecular con equipos PET, se pueden clasificar en medidas de protección y medidas de control. Las medidas de protección radiológica se encaminan a minimizar, en lo posible, la exposición a material radioactivo y sus emisiones. Las medidas de control se enmarcan dentro de la legislación vigente y están dirigidas a monitorizar la exposición sufrida por los trabajadores de la unidad, controlando que, en ningún caso, los empleados se vean expuestos a dosis radioactivas superiores a las permitidas por ley.

La manipulación del material radioactivo se lleva a cabo de una manera protocolizada, minimizando el contacto y la exposición al material y reduciendo, al mínimo necesario, el tiempo de exposición a los radiofármacos y equipos emisores de radiación. La dosis diaria de radiofármaco llega a las instalaciones de la Unidad de Imagen dentro de un contenedor de transporte blindado. Este contenedor se coloca dentro de una cabina de bioseguridad blindada y se manipula cuidadosamente, anteponiendo un cristal plomado para evitar al máximo la exposición de cabeza y tórax por parte del operador. El contenedor se abre dentro de la cabina y se extrae el vial con el radiofármaco. Toda la manipulación del vial se realiza mediante unas pinzas. Este vial se sitúa en un balancín blindado y de él se extraen las dosis. La actividad de cada dosis se mide en el activímetro. En el caso de tener un exceso de dosis en la jeringa, se devuelve parte del volumen al vial. Todo el proceso se realiza bajo las más estrictas medidas de esterilidad y protección radiológica. Posteriormente, la jeringa se introduce en un blindaje plomado específico y se lleva a la mesa de trabajo en el momento de la inyección. La inyección del radiofármaco se realiza tras un cristal plomado.

Una vez terminados los estudios PET, y hasta el completo decaimiento del radiofármaco, los animales se sitúan en un rack con una barrera blindada alrededor. Todos los desechos del proceso se depositan en papeleras blindadas para su posterior eliminación. Además, durante la realización de estudios por CT, con emisión de rayos X, todo el personal se sitúa en la sala contigua, separada de la que alberga el equipo PET-CT y protegida por una pared, una puerta y un cristal plomados.

Las medidas de control radiológico se llevan a cabo mediante la utilización de detectores de radiación y dosimetría. Los detectores de radiación empleados incluyen un detector de pared para el control de la radiación ambiental y un monitor portátil para controlar posibles contaminaciones radiactivas. El detector de pared tiene configuradas alarmas sonoras en caso de que se superen ciertos niveles de radiación. Respecto a la dosimetría, se emplea de dos tipos, de área (colocados por toda la sala y salas adyacentes) y personales, incluyendo los dosímetros de solapa y los de anillo.

Semanalmente, se analizan los datos registrados por el monitor de radiación ambiental para comprobar la no superación de los límites establecidos. Mensualmente, el departamento de bioseguridad y radioprotección recoge los dosímetros personales y de área para su posterior lectura en un centro de dosimetría acreditado.

Con el fin de asegurar el correcto funcionamiento de los equipos, se verifican mensualmente y son enviados a calibrar según un procedimiento específico detallado en la memoria de la instalación radiactiva y aprobado por el Consejo de Seguridad Nuclear.

Anualmente, se realiza una estadística del número de estudios que realiza la Unidad de Imagen y que conllevan algún tipo de radiación, ya sea exposición a los rayos X del CT o a los radiofármacos del PET.

Todas las exploraciones PET-CT que se realizan por parte de la Unidad de Imagen Molecular del CNIO siguen el procedimiento aprobado por el Comité de Ética de investigación y de Bienestar Animal (IACUC) interno del centro y del Instituto de Salud Carlos III como Órgano Habilitado.

CONCLUSIONES

El PET es una técnica de imagen que puede ser utilizada en investigación preclínica en multitud de situaciones, reduciendo el número de animales de los experimentos y aportando información valiosa no invasiva en el desarrollo de estudios longitudinales.

REFERENCIAS

- Abbey C.K., Borowsky A.D., McGoldrick E.T., et al. *In vivo positron-emission tomography imaging of progression and transformation in a mouse model of mammary neoplasia*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004, 101(31):11438-43.
- Massoud T.F. and Gambhir S.S. *Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light*. Genes Dev. 2003, 17(5):545-80.
- Mulero F., Donate L.E., and Serrano M. *Imaging cancer in mice by PET, CT, and combined PET-CT*. Curr. Protoc. Mouse Biol. 2011, 1:85-103.
- Mc Gordon A.J. *Radioisotopes in Nuclear Medicine (Internet)*. Florida International University, Biomedical Engineering Institute, Miami, Florida, USA (cited 2013, Jun 14).
- Garber K. *Energy boost: the Warburg effect returns in a new theory of cancer*. J Natl Cancer Inst. 2004, 96(24):1805-6.
- Jadvar H. *Prostate Cancer: PET with ¹⁸F-FDG, ¹⁸F- or ¹¹C-Acetate, and ¹⁸F- or ¹¹C-Choline*. J Nucl Med. 2011, 52(1):81-9.
- Grassi I., Nanni C., Allegri V., et al. *Review Article: The clinical use of PET with ¹¹C-acetate*. Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 2012, 2(1):33-47.
- Rinnab L., Mottaghy F.M., Simon J., et al. *[¹¹C]Choline PET/CT for targeted salvage lymph node dissection in patients with biochemical recurrence after primary curative therapy for prostate cancer. Preliminary results of a prospective study*. Urol. Int. 2008, 81(2):191-7.
- Couturier O., Leost F., Campone M., et al. *[Is 3'-deoxy-3'- [¹⁸F] fluorothymidine ([¹⁸F]-FLT) the next tracer for routine clinical PET after [¹⁸F]-FDG?* Bull Cancer. 2005, 92(9):789-98.
- Apisarnthanarax S., Alauddin M.M., Mourtada F., et al. *Early detection of chemoradioresponse in esophageal carcinoma by 3'-deoxy-3'-3H-fluorothymidine using preclinical tumor models*. Clin Cancer Res. 2006, 12(15):4590-7.
- Bradbury M.S., Hambardzumyan D., Zanzonico P.B., et al. *Dynamic small-animal PET imaging of tumor proliferation with 3'-deoxy-3'-¹⁸F-fluorothymidine in a genetically engineered mouse model of high-grade gliomas*. J Nucl Med. 200, 49(3):422-9.
- Graf N., Herrmann K., Numberger B., et al. *[¹⁸F]FLT is superior to [¹⁸F]FDG for predicting early response to antiproliferative treatment in high-grade lymphoma in a dose-dependent manner*. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2013, 40(1):34-43.
- Li Z., Herrmann K., Pirsig S., et al. *Molecular imaging for early prediction of response to Sorafenib treatment in sarcoma*. Am J Nucl Med Mol Imaging. 2013, 4(1):70-9.
- Shah C., Miller T.W., Wyatt S.K., et al. *Imaging biomarkers predict response to anti-HER2 (ErbB2) therapy in preclinical models of breast cancer*. Clin Cancer Res. 2009, 15(14):4712-21.
- Holland J.P., Lewis J.S., Dehdashti F. *Assessing tumor hypoxia by positron emission tomography with Cu-ATSM*. Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 2009, 53(2):193-200.
- Padhani A.R., Krohn K.A., Lewis J.S., et al. *Imaging oxygenation of human tumours*. Eur. Radiol. 2006, 17(4):861-72.
- Delbeke G.S.D., Stabin M.G., Even-Sapir E., et al. *SNM Practice Guideline for Sodium 18F-Fluoride PET/CT Bone Scans 1.0*. J. Nucl. Med. 2010, 51(11):1813-20.
- Ghanem N.A., Pache G., Lohrmann C., et al. *MRI and ¹⁸FDG-PET in the assessment of bone marrow infiltration of the spine in cancer patients*. Eur. Spine J. 2007, 16(11):1907-12.
- Fass L. *Imaging and cancer: A review*. Mol. Oncol. 2008, 2(2):115-52.
- Kwekkeboom D.J., Kam B., L., Van Essen M., et al. *Somatostatin receptor-based imaging and therapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors*. Endocr. Relat Cancer 2010, 53:R53-R73.
- Haubner R., Wester H.J., Weber W.A., et al. *Non invasive imaging of alpha (v) beta3 integrin expression using ¹⁸F-labeled RGD-containing glycopeptide and positron emission tomography*. Cancer Res. 2001, 61(5):1781-5.
- Fowler A.M., Chan S.R., Sharp T.L., et al. *Small-animal PET of steroid hormone receptors predicts tumor response to endocrine therapy using a preclinical model of breast cancer*. J Nucl Med. 2012, 53(7):1119-26.
- Kinahan P.E. and Fletcher J.W. *Positron emission tomography-computed tomography standardized uptake values in clinical practice and assessing response to therapy*. Semin. Ultrasound CT MR. 2010, 31(6):496-505.
- Lasnon C., Desmots C., Quak E., et al. *Harmonizing SUVs in multicentre trials when using different generation PET systems: prospective validation in non-small cell lung cancer patients*. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2013, 40:985-96.

Lechos Premium para
Animales de Laboratorio



LIGNOCEL®



Eficacia, fiabilidad y
trazabilidad aseguradas.



Calidad superior certificada acorde
ISO, HACCP, PEFC y EnMS

Travesera de Gracia 56, 2^o2^a
08006 Barcelona
Tel. 933 262 888
e-mail: info@jrsiberica.com

RETENMAIER IBÉRICA
S.L. Y CIA, S. COM.



Fibras diseñadas
por la naturaleza
Una compañía del grupo JRS

La técnica del acceso vascular eco-guiado como refinamiento en la cirugía experimental en el modelo porcino u ovino

**M. Esteves, C. Fonseca, M. Rosal, A. Server,
J. Sánchez de Toledo y N. Bellera**

Plataforma Cirugía Experimental – Vall d'Hebron Instituto de Recerca

INTRODUCCIÓN

La canulación de vasos sanguíneos es un procedimiento que se lleva a cabo frecuentemente en los quirófanos y que establece una monitorización hemodinámica invasiva; además, facilita la extracción de muestras sanguíneas y en determinados casos, se utiliza para procedimientos endovasculares.

Las vías de acceso más utilizadas son: en la región craneal, las venas yugulares (internas y externas) y la arteria carótida; y en la región inguinal, las venas y arterias femorales.

En numerosas ocasiones, la presencia de variaciones anatómicas, trombosis vasculares, situaciones de hipovolemia o estados de bajo gasto cardíaco pueden dificultar el acceso vascular. En otras ocasiones, si la técnica se realiza mal se producen hematomas como consecuencia de múltiples punciones fallidas que también impiden el acceso.

La técnica de punción guiada por ecógrafo en tiempo real para la introducción del catéter, facilita el acceso vascular ya que permite localizar el punto óptimo de punción, reconociendo las estructuras anatómicas adyacentes y controlando el recorrido de la aguja hasta el punto exacto de inserción. Además, se disminuye el tiempo de punción, el número de intentos y la incidencia de complicaciones. Es una técnica muy utilizada en la práctica clínica habitual, además de un método adecuado de refinamiento para los animales de experimentación.

CONSIDERACIONES BÁSICAS ANTES DE EMPEZAR CON LA TÉCNICA

- Conocimiento de los elementos básicos del ecógrafo.
- Conocimiento anatómico de la zona de exploración y estructuras vasculares.
- Preparación adecuada del material.

EQUIPOS Y MATERIALES (ver Figura 1)

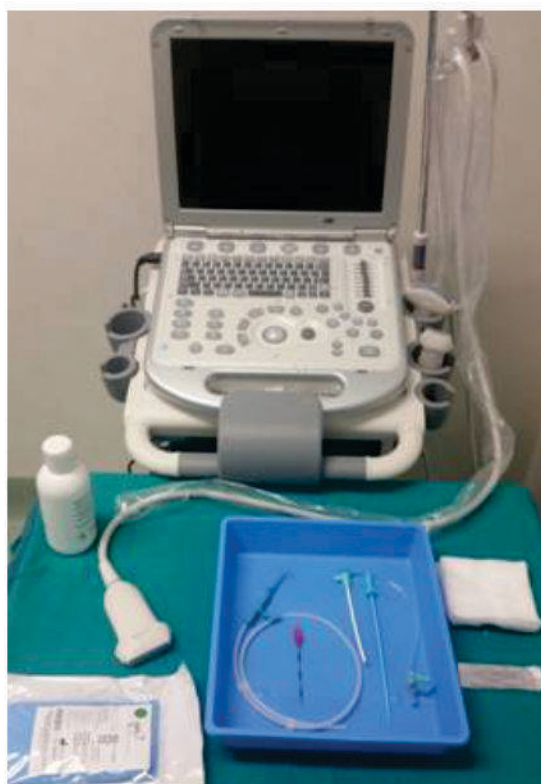


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Material necesario para realizar el procedimiento ecográfico.

- Equipo de ecografía.
- Sonda de media-alta frecuencia lineal 5-15 MHz.
- Funda para la sonda (necesaria en procedimientos estériles).
- Gel para la transmisión de ultrasonidos.
- Aguja.
- Catéter/introductor.
- Gasas.
- Bisturí.

PROCEDIMIENTO

Preparación del animal y anestesia

- Se realiza la sedación mediante una inyección intramuscular con una combinación de tiletamina, zolazepam y xilacina en el box de estabulación. Cuando pierde el reflejo de estación, se transporta al pre-quirófano para la preparación del animal antes de la realización de la técnica.
- A continuación, se pre-oxigena con una mascarilla facial, se establece una vía de acceso venoso periférico en la vena auricular y se desinfecta el área en la que vamos a realizar la punción.
- Se traslada el animal al quirófano donde se le induce la anestesia general con propofol intravenoso (IV); a continuación, se realiza una intubación orotraqueal para el mantenimiento de la anestesia mediante inhalación de isoflurano o sevoflurano y oxígeno. Durante todo el procedimiento, se mantiene una terapia de fluidos con solución de Ringer Lactato.

Realización de la técnica

1. **Activar en el ecógrafo la sonda que vamos utilizar.**
2. **Revestir la sonda con una funda para mantenerla estéril.** Como alternativa, se podría utilizar también un guante estéril (ver Figura 2). Para evitar que no quede aire entre el revestimiento y la sonda se aplica gel ecográfico encima de la sonda antes de revestirla. **Nota: Se debe manipular la sonda en todo momento con la mano no hábil.**



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 2.- Revestimiento de la sonda con una funda (imagen izquierda) o guante estéril (imagen derecha).

3. **Orientar la sonda para tener una imagen de congruencia anatómica-visual entre el animal y la pantalla del ecógrafo** (la izquierda de la pantalla representa estructuras a nuestra izquierda; ver Figura 3).

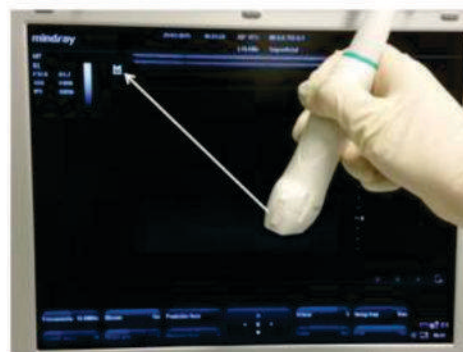


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Orientación de la sonda: el relieve lateral coincide con la parte izquierda en la pantalla del monitor del ecógrafo.

4. **Optimizar la imagen ajustando la profundidad y ganancia.** Debemos tener en cuenta que el tamaño de la imagen disminuye con el incremento de la profundidad. Ajustar la ganancia nos va a permitir modificar el balance de grises de la imagen.
5. **Reconocer las estructuras vasculares y comprobar su permeabilidad.** Los vasos sanguíneos son estructuras fáciles de reconocer y de identificar (ver Figura 4), son esféricos y anecóicos (imagen negra). La diferencia versa en que las arterias son pulsátiles y de pared gruesa (hiperecogénica), por el contrario, las venas no son pulsátiles y su pared es fina, fácilmente compresible. Para diferenciarlos empleamos los siguientes criterios:



Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Imagen ecográfica de vena (VF) y arteria (AF) femorales.

- **Colapsabilidad:** al ejercer un poco de presión con la sonda, el acceso venoso se colapsa (ver Figura 5).



Figura 5.- Imagen ecográfica de la compresión de la vena femoral.

- **Permeabilidad:** utilizando la función Doppler Color en el ecógrafo (una tecla que se activa en el ecógrafo) se identifica la presencia de flujo en el vaso sanguíneo. El flujo que se aleja de la sonda es azul y el flujo que se acerca a la sonda es rojo (ver Figura 6).

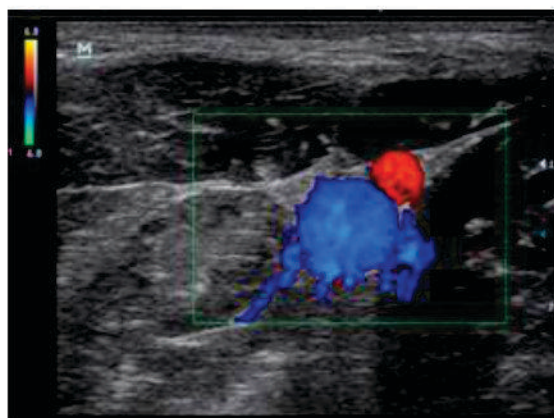


Figura 6.- Doppler Color de vena y arteria femorales.

- **Pulsatilidad:** utilizando la función Doppler Pulsado, distinguimos el flujo arterial del venoso. Las arterias son pulsátiles y tienen flujos de alta velocidad (ver Figura 7). Las venas tienen un flujo continuo y de baja velocidad (ver Figura 8).

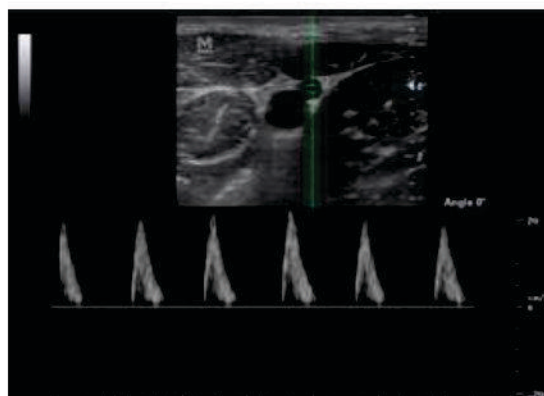


Figura 7.- Doppler Pulsado de la arteria femoral, con su representación gráfica de onda.

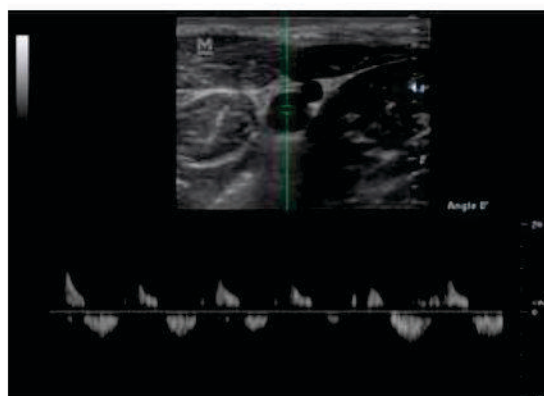


Figura 8.- Doppler Pulsado de la vena femoral, con su representación gráfica de onda.

6. Acceso vascular eco-guiado a tiempo real mediante la técnica de Seldinger.

- **Localizar el punto de punción:** este punto de introducción de la aguja en la piel es la distancia de la sonda igual a la profundidad (x) a la que está nuestro objetivo de ella (ver Figura 9).



Figura 9.- Localización del punto óptimo de punción.

Técnicas

- Introducir la aguja hasta el centro de la estructura vascular.
- A través de la cánula de la aguja introducir la guía, necesaria para la inserción, avance, desplazamiento, posicionamiento, recolocación e intercambio de catéteres de forma segura (ver Figura 10).

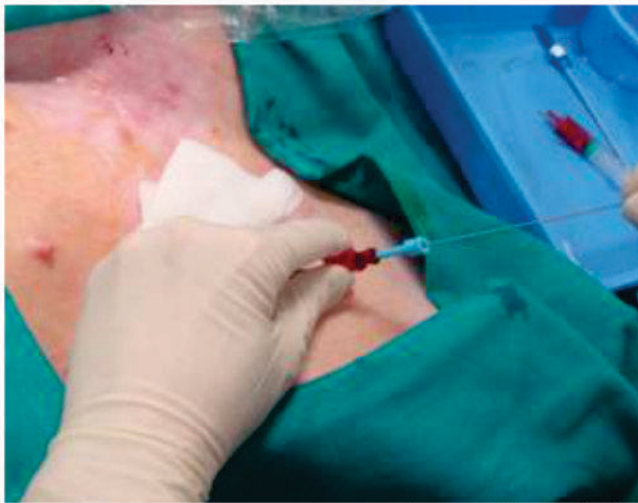


Imagen suministrada por la autoría

Figura 10.- Introducción de la aguja por la guía.

- Retirar la aguja (ver Figura 11).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 11.- Retirada de la aguja.

- A través de la guía avanzar el catéter, dilatador o introductor, previamente purgado con suero fisiológico (ver Figura 12). Es conveniente hacer un pequeño corte con el bisturí para facilitar su entrada (ver Figura 13).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 12.- Introducción del catéter por la guía



Imagen suministrada por la autoría

Figura 13.- Pequeño corte en la piel con el bisturí para facilitar la entrada del catéter.

- Una vez colocado el catéter en el lugar exacto en el que cumplirá su función, retirar la guía (ver Figura 14). Comprobar aspirando con una jeringa la correcta salida de la sangre (ver Figura 15).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 14.- Retirada de la guía.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 15.- Comprobación de la correcta posición del catéter con la aspiración de la sangre.

ASPECTOS A TENER EN CUENTA

Se necesita una pequeña curva de aprendizaje para adquirir destreza con la manipulación de la sonda y colocación del catéter.

Requiere de una inversión inicial para la adquisición del equipo de ecografía. Contrariamente, se reduce la utilización de material fungible al disminuir el número de intentos.

CONCLUSIONES

El acceso vascular eco-guiado es una técnica fácil y segura que supone un mayor refinamiento en los animales de cirugía experimental, ya que disminuye el tiempo de punción, el número de intentos y la posible incidencia de complicaciones. Además, se puede aplicar para el diagnóstico y control postoperatorio de numerosos y diferentes modelos experimentales (fetales, torácicos, cirugía general, cardiología, ginecología y urología, traumatología, oftalmología, etc.) de manera rutinaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Chamberlin S.C., Sullivan L.A., Morley P.S., et al. *Evaluation of ultrasound-guided vascular access in dogs.* Journal of Veterinary Emergency and Critical Care. 2013, 25(5):498-503.
- Pinkernelle J., Raschok N., and Teichgraber U.K. *Sonographically guided placement of intravenous catheters in minipigs.* Lab Anim (NY) 2009, 38(7):241-5.
- Calvert N., Hind D., McWilliams R., et al. *Ultrasound for central venous cannulation: economic evaluation of cost-effectiveness.* Anaesthesia 2004, 59:1116-20.





INSTRUMENTACIÓN E INSTALACIONES CIENTÍFICAS

C/. Laguna del Marquesado 14, Nave 1
28021 MADRID
Teléfono: 91 710 95 47
Fax: 91 796 65 52
E-mail: steriltech@steriltech.net
www.steriltech.net

Proteja su Investigación de la Contaminación con la Tecnología Clarus™ Peróxido de Hidrógeno Vaporizado



- Totalmente escalable
- Libre de residuos
- Baja Temperatura
- Excelente compatibilidad de materiales



CLARUS™ Z
Especialmente diseñado para salas
▪ Salas hasta 500 m³



CLARUS™ C

- SAS Biológicos
- Salas hasta 350 m³
- Racks Ventilados
- Aisladores
- Lava-racks



CLARUS™ L

- Racks Ventilados
- Aisladores
- Incubadores de CO₂
- Lava-racks



BMT Iberia, s.l.
C/. Laguna del Marquesado 14, Nave 1
28021 MADRID
Teléfono: 91 7230347
Fax: 91 5054494
E-mail: bmtiberia@steriltech.net
www.bmtiberia.es

Esterilizadores a Vapor STERIVAP HP IL, VAKULAB, UNISTERI



Aplicaciones del Peróxido de Hidrógeno en Fase de Vapor (VHP) en los Laboratorios de Seguridad Biológica

Gregorio Kaklis
STERIS IBERIA, S.L.

Tradicionalmente se ha venido usando el formaldehído en la descontaminación ambiental de los laboratorios de seguridad biológica y en los SAS de paso de materiales. La Directiva Europea 98/8/CE prohíbe su comercialización y uso a partir de julio del 2012, por el hecho que es un agente cancerígeno y teratógeno. Esto ha supuesto una creciente necesidad de sustituirlo por otro más seguro. El agente que sustituya al formaldehído debe tener una toxicidad baja, un espectro antimicrobiano similar y ser compatible con los materiales a descontaminar. El peróxido de hidrógeno en fase de vapor ha demostrado ser el agente de elección.

Este trabajo pretende comentar las diferentes posibilidades de descontaminación con peróxido de hidrógeno dentro de un laboratorio de seguridad biológica.

Consideraciones de la descontaminación con VHP

Hay dos importantes consideraciones cuando se trabaja con VHP:

1. La no condensación

El VHP es muy compatible con materiales en fase de vapor. Sin embargo, cuando condensa es agresivo y puede causar deterioros como decoloraciones y formación de ampollas. Para evitar que esto ocurra, el ciclo de descontaminación debe realizarse a humedades relativas bajas. El formaldehído para ser efectivo requiere una humedad relativa alta de entre el 60 y el 70%. Por el contrario, el peróxido de hidrógeno requiere humedades relativas generalmente por debajo del 30%. De esta forma, el ciclo se lleva a cabo por debajo del punto de condensación. También hay que tener en cuenta la temperatura de la sala y los posibles puntos fríos en los que el peróxido podría condensar.

2. La distribución

El peróxido de hidrógeno difunde peor que el formaldehído. Se le ha definido como un gas vago. Es importante tener en cuenta esto a la hora de definir la impulsión y extracción del gas durante el ciclo. En determinadas ocasiones puede ser aconsejable el uso de ventiladores.

Es importante desarrollar un ciclo de descontaminación adecuado para asegurar que se cumplan estas dos condiciones.

Descontaminación de salas y SAS de paso de materiales

La descontaminación de salas y SAS de materiales es crítica en un laboratorio de seguridad biológica. La descontaminación de las salas debe estar prevista ante cualquier eventualidad. Y la descontaminación del SAS es un proceso necesario siempre que se precisen sacar del laboratorio materiales que no se pueden autoclavar.

Considerando ambos casos como recintos cerrados, se debe de tener en cuenta:

- El volumen de la sala.
- La forma física de la sala.
- La presencia de equipamiento y mobiliario que pueda dificultar la distribución del gas.
- La temperatura.
- La humedad relativa.

A diferencia del formaldehído, el peróxido de hidrógeno requiere de una impulsión y extracción del vapor así como de una recirculación mediante un ventilador integrado en el propio equipo VHP. En general, hay que intentar que la impulsión y la extracción estén separadas y posicionadas de forma que facilite la distribución del vapor.

Panorama

El generador VHP se puede situar dentro o fuera de la sala a descontaminar (ver Figura 1); si el equipo se deja fuera hacen falta conexiones de impulsión y extracción a las salas (ver Figura 2). Esta configuración tiene la ventaja que el equipo siempre está bajo el control del usuario. De esta forma se puede llevar a cabo la descontaminación de una segunda sala con más rapidez o repetir el ciclo más rápidamente si hubiera un evento inesperado que provocara el aborto del ciclo. En el caso de un SAS, el equipo siempre se ubica fuera (ver Figura 3).

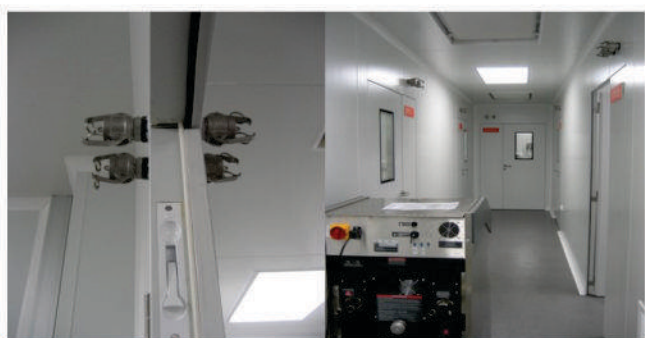


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Ubicación del equipo fuera de la sala y detalle de las conexiones Camlock.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Separación de la impulsión y extracción dentro de la sala mediante una manguera flexible.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Separación de la impulsión y la extracción dentro de un SAS.

Otras aplicaciones de la descontaminación con VHP

Algunas posibilidades interesantes de descontaminación con peróxido de hidrógeno son:

1. Descontaminación de los filtros HEPA

Esta es quizás una de las aplicaciones más interesantes. En un laboratorio BSL3, los filtros HEPA deberían poder descontaminarse *in situ* o en su defecto retirarse de una forma segura en bolsas herméticas para su posterior descontaminación o incineración. Los filtros HEPA se pueden descontaminar con VHP de forma independiente mediante la colocación de puertos de entrada y salida del vapor y compuertas que aislen las cajas de los filtros (ver Figura 4). Si se coloca la entrada y salida del vapor antes y después de los filtros HEPA de entrada y salida a las salas (si los hubiera) y compuertas aguas arriba y aguas abajo para aislar los filtros y la sala del sistema de climatización, se pueden descontaminar los filtros HEPA al mismo tiempo que las salas.

De la misma forma se pueden descontaminar las cajas de filtración múltiples (ver Figura 5).

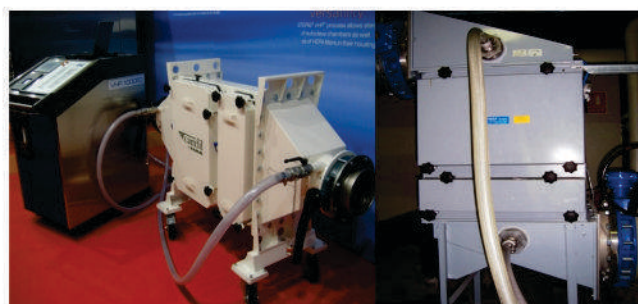


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Descontaminación de un filtro HEPA y de las compuertas de cierre del conducto para descontaminarlo.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 5.- Descontaminación de cajas de filtración múltiples.

2. Descontaminación de las Cabinas de Seguridad Biológica (CSB)

Las CSB son uno de los componentes más críticos del laboratorio BSL3. Tanto las cabinas de clase II como las de clase III disponen de filtros HEPA de impulsión y de extracción. Tradicionalmente, las CSB se han descontaminado con formaldehído. Es necesario cubrir las cabinas con una bolsa de plástico para evitar fugas del vapor de formaldehído al entorno.

Para descontaminar las CSB con VHP son necesarios puertos de entrada y salida del vapor a las CSB. Algunos modelos de cabinas ya los tienen previstos y en cualquier caso no es mala idea contemplar esto antes de comprar la cabina para definir estos puertos.

Las CSB se pueden descontaminar desde el frontal de las cabinas con una placa de cierre con las conexiones en el frontal de la cabina y el ventilador de recirculación funcionando (ver Figura 6). De esta forma, la distribución del H₂O₂ en la cabina es óptima y se descontamina el filtro HEPA de recirculación y la cara interna del filtro de extracción, pero no podemos asegurar la descontaminación del filtro de extracción porque no se hace pasar el H₂O₂ por él. Por ello, quizás la mejor forma de hacerlo es impulsar en la extracción de la cabina; de esta forma descontaminamos los dos filtros HEPA (ver Figura 7).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 6.- Descontaminación de la CSB por el frontal y a través del filtro HEPA de extracción.

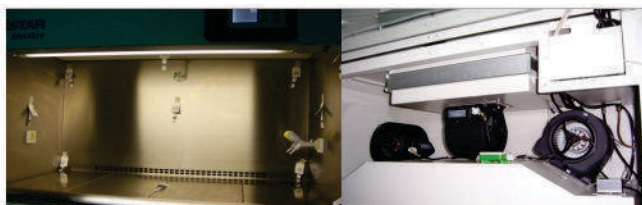


Imagen suministrada por la autoría

Figura 7.- Detalle de la colocación de indicadores biológicos y químicos para verificar la efectividad del ciclo en la cámara y en el plenum.

Dada la baja toxicidad del VHP no es necesario el uso de una bolsa y el operario puede trabajar en la misma sala al mismo tiempo que la CSB se está descontaminando.

3. Descontaminación de la cámara de un autoclave funcionando como un SAS

La posibilidad de utilizar la cámara de los autoclaves para llevar a cabo ciclos de descontaminación química como SAS de materiales puede ser interesante sobre todo en laboratorios en los que el espacio es limitado (ver Figura 8). Los ciclos de descontaminación son muy cortos, ya que la extracción del peróxido residual al final del ciclo mediante la bomba de vacío del autoclave es muy efectiva. Hay que tener en cuenta que para llevar a cabo el ciclo con VHP, la temperatura de la cámara no debe ser superior a 40 °C. Por ello, si se ha realizado un ciclo de descontaminación térmica, es necesario esperar a que la cámara se enfríe antes de hacer un ciclo de descontaminación química. Una buena pauta es hacer los ciclos de VHP necesarios al principio de la jornada de trabajo y después, llevar a cabo los ciclos de esterilización térmica.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 8.- Descontaminación de la cámara de un autoclave mediante VHP y detalle de la posición de las válvulas de corte de VHP y vapor dentro de la zona técnica del autoclave.

4. Descontaminación de los racks ventilados

Los racks ventilados proporcionan al laboratorio microaisladores con la doble función de proteger tanto a los animales confinados en ellos como a los operarios y el entorno. Para ello disponen de filtración HEPA tanto en impulsión como en extracción (ver Figura 9). La descontaminación de los racks ventilados mediante VHP tiene la ventaja que se descontaminan al mismo tiempo los filtros HEPA de impulsión y extracción, los plenums y conductos y las cubetas (ver Figura 10).



Imagen suministrada por la autoría

Figura 9.- Detalle de la impulsión y extracción en un rack ventilado. Las jaulas se descontaminan simultáneamente.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 10.- Detalle de la colocación de indicadores químicos y biológicos en los plenum de impulsión y extracción.

5. Descontaminación de la cámara de un lava racks

Al igual que un autoclave, la cámara de un lava racks también puede descontaminarse mediante VHP (ver Figura 11). En este caso, hay que tener en cuenta que la cámara debe ser hermética y el lava racks debe tener la posibilidad de secar la cámara antes de llevar a cabo el ciclo de descontaminación.



Imagen suministrada por la autoría

Figura 11.- Descontaminación de la cámara de un lava racks mediante VHP

BIBLIOGRAFÍA

- Meszaros J. E., Antloga K., Justi C., et al. *Area Fumigation with Hydrogen Peroxide Vapor*. ABSA Applied Biosafety 2005, 10(2):91-100.
- McDonnell G. and Denver Russell A. *Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance*. Clinical Microbiology Reviews 1999, 12(1):147-79.
- Hultman C, Hill A., and McDonnell G. *The physical chemistry of decontamination with gaseous hydrogen peroxide*. Pharmaceutical Engineering 2007, 27(1).
- Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Tercera Edición. Organización Mundial de la Salud, 2005.
- Cabinas de Seguridad Biológica: uso, desinfección y mantenimiento. Organización Panamericana de la Salud, 2002.
- Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2012.



Dietas
Lechos y Virutas
Jaulas y Racks
Sistemas acuáticos

Equipos
Enriquecimiento
Distribución
Soporte técnico

Vendo, luego soy

Javier Fidalgo

Socio-Consultor en **área de liderazgo**
www.areadeliderago.com

Lenguaje, s. Música con que encantamos las serpientes que custodian el tesoro ajeno.

Ambrose Bierce
Diccionario del Diablo

Hace unos años, como parte de mi licenciatura en Antropología, tuve que escoger cierto número de asignaturas optativas. Una de ellas, de forma inesperada dado que estaba convencido de que me iba a resultar un rollazo, llamada *Lenguaje, comunicación y cognición* me descubrió algunas ideas que me parecieron sorprendentes.

Me enseñaron que la *Pragmática* es una rama de la lingüística que se dedica a estudiar *una clase especial de acción humana, la acción lingüística comunicativa*¹. Y que como acción humana era racional e intencional. Me mostraron que toda *acción lingüística comunicativa* persigue dos objetivos:

- que otra persona haga algo, o
- que otra persona cambie alguna de sus ideas, o
- ambas a la vez.

Piensen en ello. Cada vez que le decimos algo a alguien (con intención comunicativa) nuestro propósito es conseguir alguno de los dos objetivos descritos. Siempre.

En ciertos casos esto es muy evidente. Si le digo a mi compañero de trabajo: ¿Puedes cerrar la ventana por favor? Intento que lleve a cabo una cierta acción. Pero hasta en los menos evidentes puede comprobarse que esas dos intenciones siguen animando la *acción lingüística comunicativa*.

Si le pregunto a un amigo: ¿Qué quieres tomar, vino tinto o blanco? Estoy buscando que mi amigo decida entre dos opciones

¹De Bustos Guadaño, E. (2004). *Lenguaje, Comunicación y Cognición: Temas Básicos*. Madrid: UNED.

o, si ya lo tenía mentalmente decidido, que haga pública su decisión. Puede que él/ella no lo tenga claro y si añado: *Este tinto está muy bueno*, mi intención está siendo la de modificar su idea (o la que yo creo que es su idea) al respecto de qué tipo de vino tomar.

Lo que más me sorprende de la propuesta de la *Pragmática* es la extraordinaria simplificación en las intenciones a las que parece reducirse todo nuestro comportamiento comunicativo.

¿No coinciden exactamente esas intenciones al comunicarnos con lo que entendemos por *vender*, en su significado más extendido?



Imagen suministrada por la autoría

Lo que subyace al acto de comprar es una decisión basada en una modificación de las ideas del eventual comprador que a su vez genera ese comportamiento de compra. Esa modificación de ideas es lo que el vendedor procura.

Quiero que un cliente compre una televisión marca LG. Pongo en marcha una serie de acciones lingüísticas comunicativas para:

Modificar sus ideas con respecto a ese modelo de televisión para que... se comporte de una forma que resulte con la televisión en su casa y su dinero en mi bolsillo.

Vender, como verbo que engloba las dos intenciones de todas nuestras *acciones lingüísticas comunicativas*, es lo que hacemos continuamente al comunicarnos en el trabajo.

Si le enseño a mi compañero cómo usar determinada función en el *Excel*, estoy intentando que modifique sus ideas (en este caso sobre cómo funciona *Excel*). Si transmito a un grupo de personas el procedimiento para hacer cierta tarea, estoy procurando que sus ideas al respecto varíen y, espero, su comportamiento se ajuste a lo transmitido.

Vendemos al jefe "esa" semana de vacaciones o un aumento del sueldo; *vendemos* a nuestros colaboradores un nuevo esfuerzo "gratuito"; *vendemos* que los nuevos ordenadores lleguen primero a nuestro departamento; *vendemos* un tipo de relación de autoridad con nuestros compañeros; si faltamos a un compromiso, *vendemos* un reajuste de nuestra imagen pública; etc.

Mientras escribía esto me topé en Forbes con un artículo: *4 peldaños para superar la adversidad y amplificar tu éxito*, que en parte coincide con lo que estoy argumentando. Cómo además ese artículo se ajusta a ese *estilo americano de comunicar* cada vez más omnipresente² cuya aplicación parece otorgar a quien lo cita un barniz científico, esto mismo voy a hacer, citarlo, con la intención comunicativa de que este artículo, el mío, gane altura en la consideración de sus lectores.

Dice Brad Harker³:

Anclada en una mentalidad bien definida, vender está en nuestra forma de pensar, actuar y comunicar. Es lo normal. [...] Todos vendemos nuestras ideas, creencias, productos o servicios todos y cada uno de los días de nuestra vida. No importa cuál sea nuestro trabajo todos ejerciendo en el arte de la influencia.

La misma idea, que nos pasamos el tiempo *vendiendo* trabajemos en ventas o no, es la defendida por Daniel H. Pink en su libro *Vender es Humano*⁴.

²Ejemplificar con un caso real que invariablemente se sustancia en joven, emprendedor, exitoso en términos americanos y *pensador práctico*.

³K. Williams, D. (29 septiembre 2015) *4 Steps To Overcome Adversity And Amplify Your Success*

Forbes. Recuperado de:

<http://www.forbes.com/sites/davidkwilliams/2015/09/29/4-steps-to-overcome-adversity-and-amplify-your-success/>

Harker relaciona *vender, actuar, comunicar y pensar*. Ya he intentado relacionar los tres primeros verbos entre sí. ¿Qué hay del *pensar*?

Es habitual considerar el lenguaje que usamos para nuestras acciones lingüísticas comunicativas como una herramienta. Una herramienta muy sofisticada y, con ese nivel de sofisticación, exclusiva de la especie humana cuyo desarrollo⁵ ha llevado miles de años.

Sin embargo es mucho más que eso. Es, según ciertos autores, lo que nos convierte en humanos.

Al respecto de la relación del pensamiento y el lenguaje Oliver Sacks en uno de sus libros de divulgación, siguiendo a Joseph Church, dice:

*El lenguaje no es sólo una facultad o una técnica más, sino lo que hace posible el pensamiento, lo que diferencia lo que es pensamiento de lo que no lo es, lo que diferencia lo humano y lo no humano*⁶.

Cita a Church y escribe:

El lenguaje transforma la experiencia [...] A través del lenguaje [...] podemos iniciar al niño en un campo puramente simbólico de pasado y futuro, de lugares remotos, de relaciones ideales, de acontecimientos hipotéticos, de literatura fantástica, de entidades imaginarias que van desde los hombres lobo a los mesones pi⁷...

Y en otro lugar:

Una deficiencia del lenguaje es una de las calamidades más terribles que puede padecer un ser humano, pues solo a través del lenguaje nos incorporamos del todo a nuestra cultura y nuestra condición humana. [...] Si no podemos comunicarnos pese a todos nuestros intentos o esfuerzos o capacidades innatas, puede resultarnos tan imposible materializar nuestra

⁴Lo cito aquí no por la calidad del libro, que a mi juicio es poca, sino porque el autor, y sus ideas, tienen mucha presencia mediática: el 1 de octubre del 2015 la búsqueda literal "Dan Pink" en Google arroja medio millón de resultados, y él aparece en *websites* de divulgación "seria" como *www.TED.com*.

⁵Hasta dónde he leído, en qué medida ese desarrollo está asentado en nuestros genes o nuestra cultura es un tema no resuelto y objeto de discusión científica.

⁶Sacks, O. (2003). *Veo una Voz*. Barcelona: Ed. Anagrama S.A. (p.91).

⁷Ibid. (p.69).

Factor Humano

capacidad intelectual que lleguemos a parecer deficientes mentales.

Así que, según parece, somos humanos inteligentes porque tenemos un lenguaje que hace posible que nuestras capacidades cognitivas emerjan. Una de esas capacidades resulta ser una sofisticada habilidad de comunicación cuya intención es "vender". Casi podemos adaptar el famoso argumento filosófico de Descartes para decir: *vendo, luego soy.*

25
AÑOS
1.990 - 2.015

TÚ TAMBIÉN PUEDES SER
PARTE DE LA SECAL
¡HAZTE SOCIO!



www.secal.es



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

www.secal.es



Granja San Bernardo

*Minimal Disease
Level Rabbits*

New Zealand White Rabbit.
Total absence of all important rabbit disease germens
with specific sanitary garantees.

Ask our most recent garantee table at
www.granjasanbernardo.com

Cuidando de la investigación

Davinia Hernández
Universidad Rey Juan Carlos

Hola, me llamo Davinia Hernández y trabajo como cuidadora en el animalario de la Universidad Rey Juan Carlos desde hace 9 años. Me encargo de una parte fundamental de la investigación, cuidar de los animales, y me gusta.



Imagen suministrada por la autoría

Es un trabajo que puede resultar rutinario, ya que consiste en cambiar la cubeta, poner agua limpia y comida, así como comprobar el aspecto de los animales para detectar posibles problemas de salud y comunicárselos al responsable en salud y bienestar animal. Es un trabajo con el que disfruto, ¿por qué? Porque puedo tratar de forma directa con los animales, ver su comportamiento, cómo cuidan de sus crías, la lactancia, el aseo, sus juegos y disputas por el mismo trozo de pellet... Desde hace un par de meses tengo la suerte de ver cómo está mejorando la calidad de vida de estos animales, ya que estamos probando un tipo de enriquecimiento ambiental, comúnmente llamado Bisbales, por su parecido con los rizos del cantante almeriense. Sinceramente, creo que disfruto yo más que los propios animales, porque al ofrecérselos puedo observar los nidos que hacen con ellos.

Siempre que cambio la cubeta intento hacerlo respetando el nido, dejándolo tal y como lo construyen los animales. Son construcciones muy bonitas y elaboradas, ya que utilizan todos los materiales que tienen en su cubeta para elaborarlos. Algunos utilizan otros tipos de enriquecimiento ambiental, como las

maderitas, y en caso que les pongas un túnel de cartón, no dudan en aprovecharlo.



Imágenes suministradas por la autoría

El centro del nido es el lugar reservado para las crías, pero hay que tener mucho cuidado a la hora de cambiarlas, ¡no sea que se te pierda alguna cría por el nido! Esto si hablamos de ratones y ratas gestantes. Sin embargo, cuando tenemos grupos de animales, lo que más aprovechan son unas casitas y túneles de cartón donde se esconden y se meten todos a pelotón, ¡se les ve disfrutar! Con elementos tan fáciles de encontrar como un tubo de cartón, proporcionas al animal la posibilidad de construir un hogar o de pasar horas de diversión.

Durante mi jornada de trabajo, también nos dedicamos a lavar y esterilizar el material que hemos cambiado a lo largo del día y a anotar las medidas de presión, humedad y temperatura de cada una de las salas del centro. Tras esta concienzuda tarea, revisamos los laboratorios experimentales, donde se encuentran los animales tratados, vemos su estado prestando mucha atención a su comportamiento y aspecto, aseamos la sala de estabulación de



Imagen suministrada por la autoría

los mismos, y reponemos agua y comida si así lo requieren. Si vemos algo fuera de lo normal avisamos a nuestro responsable en salud y bienestar animal y al investigador, con el que tenemos un trato directo y cercano. Al terminar nuestras rutinas diarias, prestamos apoyo al investigador que nos lo pide y revisamos todas las salas del animalario para comprobar que todo está correcto antes que termine la jornada. Aquí es cuando puedes ver la tranquilidad de estos animales y sus conductas; por ejemplo ves cómo comen, roen la comida, o cómo amamantan a sus crías.



Imagen suministrada por la autoría

Y si te esperas a que se apaguen las luces de las habitaciones puedes oír, como en un segundo, la tranquilidad es algo que ya no existe, viene el momento de plena actividad, ¡qué jaleo se traen! En esto consiste mi trabajo, y es lo que me tocó contar en la semana de los oficios en la guardería de mi hija, que tiene ahora 3 años. Teníamos que ir los padres a explicar nuestros trabajos, y entonces fue cuando me pregunté: ¿cómo le explico a mi hija (no ahora, si no cuando vaya cumpliendo años) que trabajo en el mundo de la experimentación animal?

Al cuidado

La verdad, que a niños de 3 años, no es necesario darles información tan explícita del fin de estos animales. Fue suficiente con enseñarles fotos de mis amigos, los ratones, y mis amigas, las ratas, jugando al escondite, cuidando a sus crías, jugando con pelotas y durmiendo la siesta. Pero lo mejor de todo fue cuando les puse bata, guantes y gorrito: se lo pasaron pipa. No olvidé hacer especial hincapié en que a los animales se les trata con respeto y cariño puesto que es así como desarrollamos nuestro trabajo diariamente con ellos.



Imagen suministrada por la autoría

Con esta experiencia, pensé que se deberían acercar más estos temas a la sociedad, dar a conocer la relevancia de este tipo de investigación y su repercusión. Mostrar sobre todo, que la gente que trabajamos en la experimentación animal somos los primeros en preocuparnos por su estado de salud, en que tengan una vida digna y por supuesto, una muerte también digna. No sólo porque de ello dependerá la calidad de la investigación, sino también porque son seres vivos que padecen y se merecen toda nuestra dedicación por el papel que están ejerciendo en los avances de los que son partícipes.



Imagen suministrada por la autoría

Quisiera dar las gracias a mi jefe Sergio Ferreiro por animarme a escribir este artículo, a Paloma García por dejarme participar en esta sección de la revista SECAL, y a mi compañero Alejandro Gómez con el que comparto muchas horas de trabajo.



Foto: shutterstock

International Product Supplies Limited



Feeding the Innovations of Modern Research

- European Manufacture
- Used & Trusted in Facilities Worldwide
- Fast Flexible Lead Times
- Nutritional Expertise & Advice
- Traceability
- Quality Assurance
- Prompt Delivery
- Modern Technology

TestDiet® Europe

- DIO High Fat Range
- Fenbendazole
- Doxycycline
- Helicobacter
- AIN Series
- Tamoxifen

www.testdiet.com



LabDiet.

- All Species
- Meal
- Autoclavable
- Irradiated
- Extruded
- GLP

www.labdiet.com



Also available to order
in Spain and Portugal
from IPS distributor:

Sodispan Research S.L.

C/ Isla de Tavira, 14
28035 Madrid, Spain
Phone: +34 629159613
Facsimile: +34 914593962
Email: sodispan@sodispan.com

Para que una persona trabaje con seguridad hacen falta tres condiciones. Las tres son necesarias, pero ninguna es suficiente....

Carmen García Ortiz

Máster en Prevención de Riesgos Laborales

Presento en esta ocasión una reflexión que llegó a mis manos a través de la web, basada en el libro “El factor humano en la seguridad laboral” (J.L. Meliá Navarro), en el que se describe el por qué se producen los accidentes, qué debe evaluarse en prevención con respecto al factor humano y qué medidas de acción preventiva pueden aplicarse.

En esta obra se destacaba un concepto fundamental en la prevención de riesgos laborales, el denominado “**modelo tricondicional de la seguridad laboral**”. Este modelo considera que para que una persona trabaje con seguridad se deben dar tres condiciones: **poder** hacerlo, **saber** hacerlo y **querer** hacerlo.

¿Qué es “**saber**”? En Seguridad y Salud Laboral es conocer los riesgos laborales y cómo prevenirlos y evitarlos. ¿Puede una persona tener una conducta segura si no sabe cómo hacerlo?

¿Qué es “**poder**”? Tener la capacidad, destreza, habilidad y herramientas para realizar algo. En Seguridad y Salud Laboral es, por ejemplo, disponer de equipos de protección individual, instrucciones de uso, calibradores... ¿Se puede usar un equipo de protección individual si no se tiene al alcance?

¿Qué es “**querer**”? En Seguridad y Salud Laboral es la voluntad de obrar de una manera segura. ¿Podemos esperar una actuación de una persona que no tiene la voluntad de realizarla?

Si somos capaces de detectar cuál de estos tres puntos falla en nuestro sistema de prevención, podremos tomar las medidas adecuadas, que se pueden resumir en:

- La persona que sabe, puede y quiere, sólo necesita motivación; es decir, darle motivos para que mantenga la conducta segura.

- La persona que no sabe, puede y quiere, necesita formación; sólo podremos tener criterio sobre lo que conocemos.
- La persona que sabe, no puede y quiere, necesita recursos.
- La persona que sabe, puede y no quiere hay que sensibilizarla; la concienciación es un factor clave.
- Y la persona que no sabe, no puede y no quiere ...

Formación, motivación, sensibilización.

La **actitud preventiva** es el grado de “favorabilidad” o “desfavorabilidad” que se tiene hacia la prevención. Un trabajador que sienta positivamente la prevención será un trabajador que realice actos y conductas seguros.

El conocimiento (**formación**) que se tiene sobre la prevención es fundamental. ¿Podemos tener una actitud favorable hacia la prevención si no conocemos los riesgos a los que estamos expuestos ni las medidas preventivas para evitarlos? ¿Qué actitud tenéis frente a lo desconocido? En el mejor de los casos, neutra.

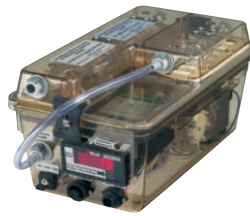
El sentimiento (**emoción**) que genera la conducta segura es imprescindible. ¿Cómo se siente una persona que realiza un acto inseguro? Si nos sentimos mal (culpables) en un futuro disminuirá la probabilidad de que se vuelva a realizar. ¿Cómo conseguirlo? Recriminando conductas inapropiadas y valorando las conductas seguras.

Head office Castrop-Rauxel
Hermannstraße 2-8
44579 Castrop-Rauxel, Germany
phone +49 (0) 23 05 9 73 04-0
fax +49 (0) 23 05 9 73 04-44

Facility in Emmendingen
Fabrikstraße 2
79312 Emmendingen, Germany
phone +49 (0) 76 41 92 65-0
fax +49 (0) 76 41 47 97-2

Facility in Schönwalde
Hauptstraße 61b
16348 Wandlitz, Germany
phone +49 (0) 3 30 56 8 13-11
fax +49 (0) 3 30 56 8 13-12

BIOSCAPE
E B E C O + E H R E T F U S I O N



Full service lab animal technology

Representante en España:

Mari Carmen Viso

E-Mail maria-carmen.viso@bioscape.de

Teléfono + 34 6 55 76 38 28

Fax + 34 9 66 14 96 45

info@bioscape.de

-  Cages, racks for conventional animal husbandry
-  Ventilated systems + IVC cages
-  Individual cages
-  Cage systems
-  Transport + accessories
-  Washing, cleaning + decontamination

Fenotipo de los nemátodos intestinales en ratón

Sara Capdevila, DVM, MSC
Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB)

En una revista dedicada al fenotipo, es decir, al aspecto exterior, me viene en mente si nunca nos hemos preguntado por el aspecto de algunos de los parásitos intestinales más frecuentes que podemos encontrar en las colonias de ratones. Hablamos de los nemátodos (*pinworms* en inglés).

Los nemátodos son gusanos intestinales de color blanco, filiformes y de un tamaño aproximado de 1-6 mm de longitud. Estos molestos acompañantes difícilmente pueden verse a simple vista en las heces de los animales, pero sí pueden visualizarse macroscópicamente en la luz del intestino cuando están vivos (ver Figura 1), siempre cerca del ciego (lugar en el que residen habitualmente), en el intestino delgado o en el colon proximal.

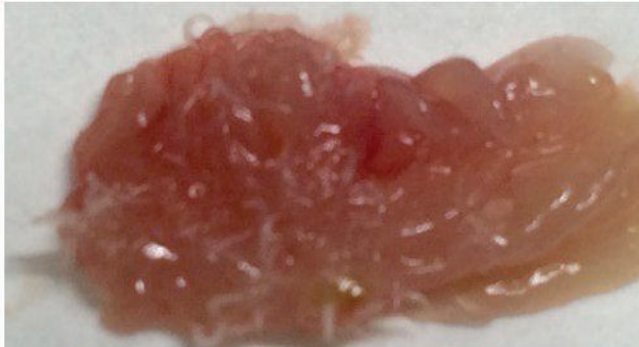


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Visualización macroscópica de los nemátodos en la luz del intestino.

Existen dos especies de nemátodos de la familia Oxyurina, *Syphacia* y *Aspiculuris*, ambas especies con un ciclo directo. La primera requiere tan solo de 11 a 15 días para completar su ciclo, mientras que *Aspiculuris* necesita de 23 a 25 días. El parásito adulto reside en el intestino; las hembras *Syphacia* migran a la zona perianal para depositar los huevos generando prurito; y las hembras *Aspiculuris* realizan la ovoposición en el colon; en ambos casos los huevos son eliminados a través de las heces. Para una reinfestación, es necesaria la ingestión de los mismos. Los huevos eclosionan en el plazo de 5 a 20 horas y las larvas migran al intestino para llegar a la etapa adulta y volver a reproducirse. Teniendo en cuenta que una de las características etológicas de

los ratones es la coprofagia, podemos concluir que las probabilidades de infección y reinfestación en animales que están en contacto son altísimas. Los huevos son muy resistentes al medio ambiente, pueden sobrevivir durante semanas, y tienen una gran capacidad de suspensión en el aerosol ambiental, por lo que es un parásito que puede extenderse fácilmente en la instalación si no se toman medidas de precaución.

Tanto *Syphacia obvelata* como *Aspiculuris tetraptera* tienen un fenotipo macroscópico muy similar, si bien microscópicamente tienen pequeñas diferencias que nos permiten distinguirlos. La forma de sus huevos también es distinta y esta característica nos es útil para el diagnóstico.

Syphacia obvelata (ver Figura 2) se caracteriza por tener un bulbo esofágico redondo en la zona craneal y lo que podríamos describir como unas pequeñas alas cervicales. Las hembras miden de 3.4 a 5.8 mm de longitud y los machos son más pequeños de 1.1 a 1.5 mm. La cola del animal es larga y puntiaguda. Sus huevos tienen una forma alargada (que recuerda a un plátano), aunque obviamente de una medida muy inferior, 118-153 x 33-55 μm .



Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- *Syphacia obvelata* adulta y huevos de *Syphacia obvelata*.

Aspiculuris tetraptera (ver Figura 3) tiene un bulbo esofágico ovalado y unas alas cervicales muy prominentes. Las hembras y los machos tienen un tamaño parecido: mientras que ellas miden de 2.6 a 4.7 mm de longitud, ellos no superan los 2-4 mm. La cola es cónica. Los huevos tienen forma de pelota de rugby, son simétricos y se puede observar su mórula.

Cada hembra puede llegar a tener centenares de huevos (ver Figura 4).

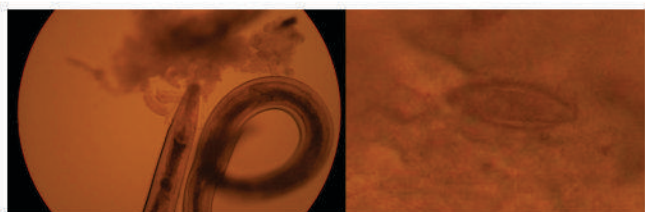


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- *Aspiculuris tetraoptera* adulta y huevo de *Aspiculuris tetraoptera*.

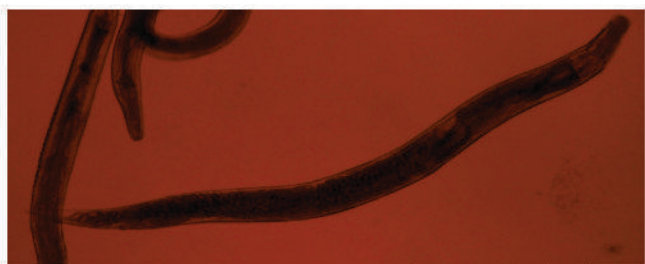


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Hembra de nemátodo llena de huevos.

Cuando un ratón está infestado por nemátodos, difícilmente se observan signos clínicos. Las complicaciones que pueden surgir de altas cargas parasitarias son: pérdida de peso, prolapso rectal, diarrea o irritación perianal. Las larvas de los parásitos pueden migrar y traspasar la placenta, infestando a las crías durante el último tercio de gestación. En una colonia afectada, las crías recién destetadas y los animales inmunodeficientes son los que tienen una carga parasitaria superior, por tanto los animales indicados para actuar como centinela son los inmunodeficientes.

Se ha descrito la influencia que puede tener la presencia de estos parásitos en los resultados experimentales, especialmente en inmunología, ya que parece ser que la infección altera la respuesta humoral a estímulos de antígenos no parasitarios.

El diagnóstico se puede realizar por varios métodos distintos al examen directo del contenido del ciego y colon descrito anteriormente. En el laboratorio puede utilizarse una PCR de las heces para detectar presencia de antígenos. En el animalario se puede utilizar la técnica del papel adhesivo en el ano, por ejemplo. Con esta técnica intentamos capturar los huevos que son depositados en esta zona. Solo podremos visualizar en el microscopio los huevos de *Syphacia*, por ser su punto de ovoposición. No así con el caso de *Aspiculuris*. También podemos recurrir a la técnica de flotación para visualizar los huevos. Para la flotación existen kits comerciales que proporcionan todo el material necesario. Básicamente, se trata de coger una muestra de varias heces, homogeneizarlas y diluirlas en una solución de

sulfato de zinc o sacarosa. Con esto conseguiremos que los huevos floten y se coloquen en la parte superior de la dilución. Con un porta podemos recoger estos huevos y observarlos en el microscopio a 10 aumentos. Como ya hemos visto, no sólo nos permite identificar la presencia de los oxyuridos en la colonia, sino que incluso podemos diferenciar la especie según la morfología de los huevos. La sensibilidad de estas técnicas está estimada en un 80%, mientras que la observación del contenido del colon y ciego se acerca al 100%. La diferencia entre ambas es que la primera es conservadora respecto al animal mientras que la segunda requiere necropsia.

Existen tratamientos farmacológicos para desparasitar a los ratones. Se utilizan antihelmínticos de amplio espectro como la ivermectina, el fenbendazole o mebendazole. La ivermectina se administra en agua de bebida, y el fenbendazole o mebendazole en piensos medicados, formulados específicamente. A pesar de lo que pudiera parecer, liberarse de los nemátodos en una colonia de ratones no es fácil. El éxito del tratamiento radica en varios factores. En primer lugar, el tratamiento debe cubrir un plazo mínimo de tiempo correspondiente a dos ciclos infectivos, ya que los productos son eficientes contra adultos pero no matan a los huevos. En segundo lugar, al tratarse de tratamientos orales, las crías lactantes que están infestadas no reciben el fármaco, por lo que pueden actuar como reservorio del parásito. En tercer y último lugar, la resistencia de los huevos al medio ambiente y la facilidad de diseminación tampoco juegan a nuestro favor. Por tanto, el tratamiento farmacológico se debe combinar con una contención y desinfección de los materiales, equipos, estructuras y superficies de la sala afectada con los productos y técnicas adecuados para la eliminación de los huevos, considerados estructuras resistentes. El autoclave por un lado, y los desinfectantes de alta eficiencia, capaces de eliminar esporas, serían los métodos de elección.

BIBLIOGRAFÍA

- Baker D.G. *Parasites of laboratory animals*. Second edition. Wiley and Sons, 2007.
- Percy D.H. and Barthold S.W. *Pathology of laboratory rodents and rabbits*. Second Edition. Wiley-Blackwell, 2001.
- Eguíluz C., Rossi M., and Viguera E. *Pinworm detection in mice with immunodeficient (NOD SCID) and immunocompetent (CD-1 and Swiss) soiled bedding sentinels in individually ventilated cage systems*. *Laboratory Animals*. 2015, 49(4) 302-10.
- Pritchett K.R. and Johnston N.A. *A review of treatments for the eradication of pinworm infections from laboratory rodent colonies*. *Contemp. Top Lab Animal Sci*. 2002, 41 (2):36-46.
- <http://dora.missouri.edu/mouse/pinworms/>

Recursos sobre transgénesis y fenotipado de ratón en internet

Sergi Vila Bellmunt

El trabajo conjunto de centros a nivel nacional e internacional está generando multitud de información y recursos en la caracterización fenotípica de ratones modificados genéticamente. Diferentes portales aglutinan toda esta información en internet mediante bases de datos públicas y de libre acceso. En este artículo, intentamos sintetizar todos estos recursos a través de la evolución de los proyectos desarrollados por la Unión Europea y algunos ejemplos activos en España.

La Unión Europea puso en marcha en el año 2002 el proyecto EUMORPHIA (European Union Mouse Research for Public Health and Industrial Applications) cuyo principal objetivo fue el desarrollo de protocolos estandarizados para mejorar la caracterización fenotípica de ratones modificados genéticamente, y la identificación de modelos animales para el estudio de las enfermedades humanas de base genética. La base de datos de estos SOPs (Standard Operating Procedures) se puede consultar en EMPReSS (European Mouse Phenotyping Resource of Standardised Screens: <http://empress.har.mrc.ac.uk/>).

Finalizado EUMORPHIA, en 2006 se continuó con EUMODIC (European Mouse Disease Clinic: www.eumodic.org), un consorcio de 18 centros en 8 países europeos, destinado al fenotipado de líneas de ratón transgénico mediante la aplicación a gran escala de SOPs. Esta iniciativa ha conllevado la creación de grandes instalaciones dedicadas al fenotipado de nivel primario (Fase o pipeline I) de ratones, las denominadas Mouse Clinics. Los datos de este fenotipado de nivel primario son públicos en EuroPhenome (European Mouse Phenotyping Resource: www.europenome.org).

- www.empress.har.mrc.ac.uk
- www.eumodic.org
- www.europenome.org
- www.mousephenotype.org
- www.informatics.jax.org
- www.cnb.csic.es

EUMODIC fue el primer paso hacia la creación de una base de datos de todas las funciones de los genes del ratón, una visión que realiza el IMPC (Institutional Mouse Phenotyping Consortium: <http://www.mousephenotype.org/>). El IMPC incorpora 20 centros de todo el mundo con el objetivo en los próximos diez años de descubrir el papel de 20.000 genes en el genoma del ratón.

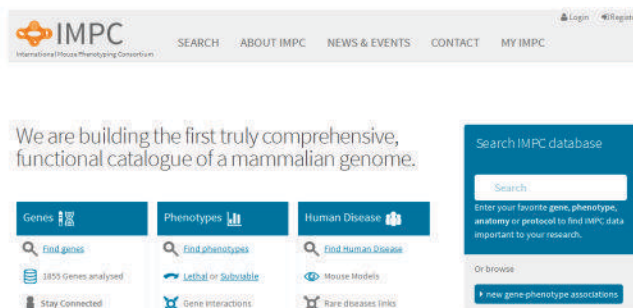


Imagen suministrada por la autoría

- MGI (Mouse Genome Informatics Online Resource: www.informatics.jax.org)

Es una base de datos internacional necesaria un artículo aparte sólo para ella con los genes, alelos, expresión y fenotipos del ratón de laboratorio. Las fuentes son inmensas: bases de datos como IMPC, NCBI, OMIM, bibliografía científica, etc.



Imagen suministrada por la autoría

- El fenotipado de modelos de animales de enfermedades raras SEFALer:

<http://www.ciberer.es/plataformas/sefaler>

Es un servicio coordinado por el CIBERER a través de varios de sus grupos de investigación especializado en el fenotipado de modelos de animales con aplicación específica para enfermedades raras.



Imagen suministrada por la autoría

- Mapa de la transgenia animal en España:

<http://www.cnb.csic.es/~transimp/mapa/>

Es un mapa creado por el Dr. Lluís Montoliu (CNB-CSIC) con los servicios disponibles en España de transgénesis de ratón, criopreservación, fenotipado y transgénesis en pez cebra.



Imagen suministrada por la autoría



PRINCIPIOS ÉTICOS EN INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA CON MODELOS ANIMALES

1

SE DEBE EVITAR EL USO DE ANIMALES CUANDO EXISTA UN MÉTODO ALTERNATIVO QUE PROPORCIONE RESULTADOS SATISFACTORIOS.

www.secal.es



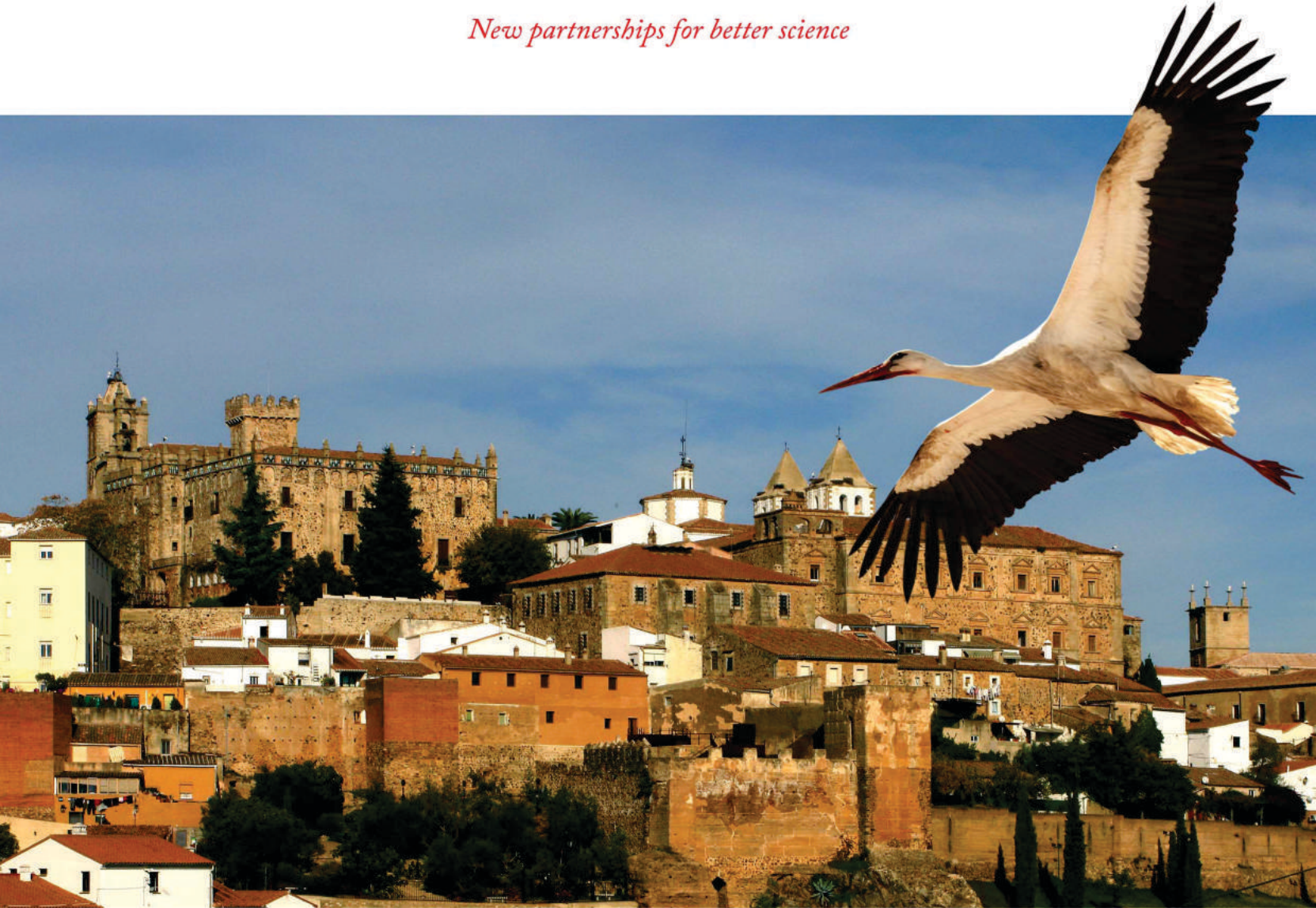
Foto: Shutterstock

SECAL SPCAL

XIII CONGRESO SECAL – III CONGRESSO SPCAL

I CONGRESO IBÉRICO DE CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO – I CONGRESSO IBÉRICO DE CIÊNCIAS DE ANIMAIS DE LABORATÓRIO

New partnerships for better science



Cáceres, 18,19 y 20 de noviembre de 2015
Centro de Cirugía de Mínima Invasión "Jesús Usón"



Diagnóstico “estallado”

Y. Brito Godoy¹ y R. Saavedra Marrero²

¹ *Técnica de Laboratorio y Anatomía Patológica de la Unidad de Investigación*
² *Servicio de Ilustración. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín*

A los técnicos de un animalario, se les ha encargado seleccionar un lote de 8 ratas con 3 días de gestación para emplearlas en un estudio de toxicidad teratogénica de una nueva molécula con potencial antihiperlipidémico.

Se escogieron ratas Sprague Dawley de 90-100 días de edad, con peso aproximado de 220-270 g. Para identificar a las hembras sexualmente receptivas, fue imprescindible clasificar a dichas hembras en los distintos estadios del ciclo estral en los que se encontraban. Para ello se realizó un frotis vaginal, como se describe (ver Figura 1):



Imágenes suministradas por la autoría

Figura 1.- A. Técnica de inmovilización con sujeción de la cola y lavado vaginal con cuentagotas flexible. B. Colocación de la muestra (3-4 gotas) sobre portaobjetos. C. Tinción de panóptico rápido, tras secado.

1. Se inmovilizó la rata con la mano izquierda, dejando que el animal se apoyara sobre el antebrazo del mismo lado e introdujera su cabeza bajo el codo del técnico.
2. Se levantó la cola del animal con los dedos índice y pulgar de la mano izquierda y con la derecha se introdujo en la vagina un cuentagotas de plástico flexible con agua bidestilada (1 ml aprox.).
3. Se tomó una muestra de las células que recubren la vagina, con lavados y aspirados repetidos (3-4 veces).
4. Se añadieron 3-4 gotas de dicho lavado sobre un portaobjetos, secándose a temperatura ambiente (20-22 °C).

5. Posteriormente se realizó una tinción de panóptico rápido:
 - a. Los cubreobjetos se sumergieron 15 veces seguidas (1 segundo) en solución alcohólica de triarilmetano.
 - b. Seguidamente se sumergieron otras 15 veces (1 segundo) en solución tamponada de xanteno.
 - c. Finalmente se sumergieron 20 veces (1 segundo) en solución tamponada de tiazina.
6. Se dejaron secar y se observaron al microscopio con aumentos 10X, 20X y 40X.

De este modo, del total de hembras muestreadas se escogieron las que se encontraban en fases de estro (ver Figura 2) y en proestro avanzado (ver Figura 3) y se colocaron con el macho, en la cubeta de éste (1 ♀:1 ♂). A las 24 horas, se realizó un nuevo frotis (sin tinción) para detectar la presencia de espermatozoides con la típica cabeza “en gancho”, señal de que habrían quedado preñadas.

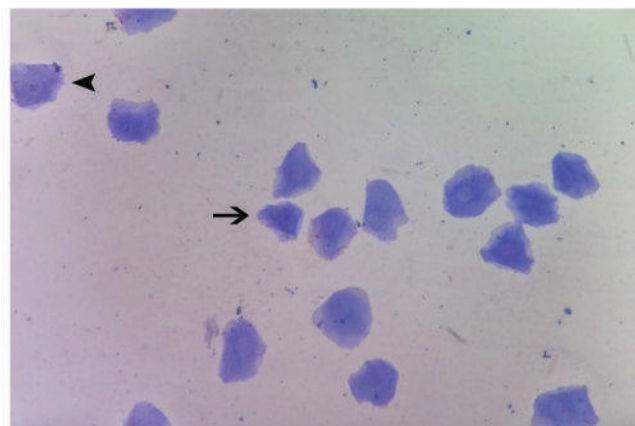


Imagen suministrada por la autoría

Figura 2.- Frotis vaginal 40X (tinción panóptico rápido). Fase de Estro. Se pueden observar células escamosas queratinizadas enucleadas (flecha) y células superficiales nucleadas (punta de flecha negra).

¿Y tú qué opinas?

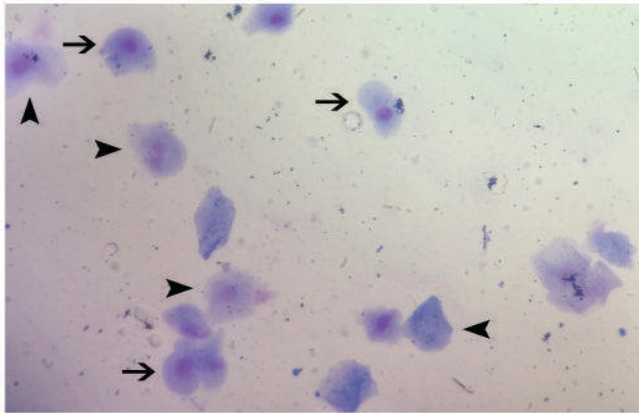


Imagen suministrada por la autoría

Figura 3.- Frotis vaginal, incorrectamente realizado y clasificado como Fase de Proestro 40X (tinción de panóptico rápido). Mezcla de células basales (flecha) y falsas células escamosas intermedias y superficiales (cabeza de flecha).

Sorpresivamente, se observó que el número de hembras gestantes a las 24 h, era muy pequeño, no correspondiéndose con las expectativas derivadas de los frotis. Se mantuvieron 24 h más con los machos, obteniéndose los mismos resultados negativos que el día anterior.

La fertilidad de los machos se había comprobado previamente, y por lo tanto, se descartó un problema derivado de éstos. El protocolo se volvió a repetir con otras hembras diferentes, obteniéndose resultados similares. Esta vez, los técnicos observaron que los resultados negativos del segundo frotis (para detectar espermatozoides) correspondían a las hembras clasificadas en fase de proestro avanzado.

¿Y tú qué opinas?

¿Consideras útil la técnica del frotis vaginal?

¿Se ha realizado correctamente la técnica?

¿Cuál podría ser el origen de este “problema de infertilidad”?

¿Qué propondrías para evitar problemas futuros?

SOLUCIÓN

En la actualidad, es habitual en muchos animalarios la petición de ratas con fecha de gestación determinada para ser utilizadas en estudios durante la fase embrionaria o fetal. Por otra

parte, el conocimiento de la fase sexualmente activa puede permitir sincronizar la gestación y obtener unas planificaciones de la producción más exactas. En este sentido, el medio técnico más utilizado para conocer la fase del ciclo estral es la citología vaginal, y programar, en consecuencia, los cruces diarios para obtener, de este modo, las ratas gestantes pedidas para una fecha concreta.

Si leemos con detenimiento el protocolo para la realización del frotis, observaremos que se ha empleado agua bidestilada para hacer los lavados vaginales. Lo correcto habría sido utilizar suero salino. Al utilizar agua bidestilada hemos provocado un choque osmótico de las células basales del epitelio vaginal confundiendo su aspecto con el de las células escamosas queratinizadas, típicas de la fase de estro (fértil) y/o proestro avanzado. Si volviésemos a realizar un frotis correctamente sobre la misma rata, clasificada erróneamente en proestro avanzado, veríamos como el número de células escamosas es mucho menor y por el contrario el de células basales, mayor (ver Figura 4).

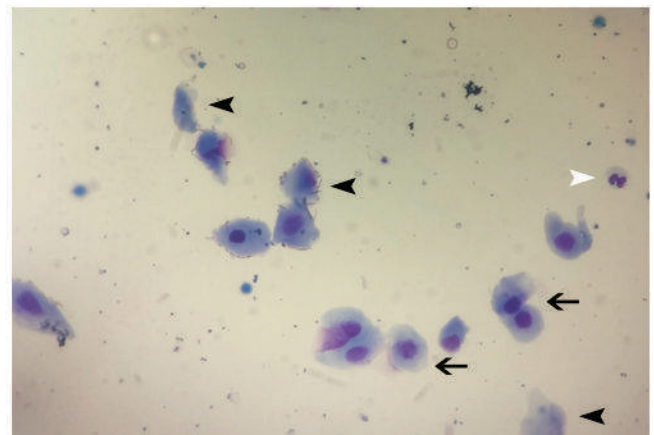


Imagen suministrada por la autoría

Figura 4.- Frotis vaginal correctamente realizado de la misma rata de la imagen 3. Fase de Proestro 40X (tinción de panóptico rápido). Mezcla de células basales (flecha) y células escamosas intermedias y superficiales (cabeza de flecha), con número mínimo de neutrófilos (punta de flecha blanca). Se observa, si lo comparamos con el falso proestro avanzado de la imagen anterior, como el número de células escamosas es mucho menor, aumentando el de las células basales. Obsérvese también, que la relación núcleo:citoplasma en las células basales de la imagen 3, es mayor que en las basales de la imagen 4. Esto es debido a la entrada de agua destilada al interior celular, provocada por la diferencia osmótica entre el citoplasma y el espacio extracelular.

Si hubiesen empleado una tinción como el Papanicolau, este error se hubiese detectado más rápidamente ya que el citoplasma de las células escamosas se hubiera teñido de color anaranjado por su pH acidófilo, manteniendo su morfología normal. Mientras que en las células basales, alteradas (estalladas) por el choque osmótico, tendrían una morfología similar a las escamosas pero su coloración hubiese sido azul.

Un método para detectar las hembras en fase de estro, menos afectado por la subjetividad del operario a la hora de interpretar citologías, sería el empleo de la técnica de la conductividad eléctrica del moco vaginal IMPEAST (detector por impedancia). De manera resumida, consiste en introducir una pequeña sonda en vagina que nos medirá la resistencia eléctrica de la mucosa vaginal. La relación entre esta variable y las fases del ciclo estral en animales de granja es conocido desde 1962, siendo Bartos (1975) el primero en describir esta aplicación en ratas de laboratorio. Las hembras con valores de impedancia superiores a 2 KO, se seleccionarían para introducir las con los machos a las 18 h de la lectura.

BIBLIOGRAFÍA

- Bartos L. *Vaginal impedance measurement used for mating in the rat.* Lab. Anim. 1977, 11(1):53-5.
- Butcher R.L., Collins W.E. and Fubo N.W. *Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol 17-B throughout the 4-day cycle of the rat.* Endocrinology 1974, 94(6):1704-8.
- Koto M. *Change in the electrical impedance caused by cornification of the epithelial cell layer of the vaginal mucosa in the rat.* Exp. Anim. 1987, 36(2):151-6.
- Muñoz L. *Evaluación del Impeast (detector por impedancia) para determinar la fase de receptividad sexual en la rata.* Actas del III Congreso de la SECAL 1994, Granada, 20-22.
- Zúñiga J. *Frotis vaginal en rata.* Material didáctico para el curso de Formación de postgrado en Protección y Experimentación Animal para investigadores en Ciencias Biomédicas. CATEGORÍA C. Universidad de Granada. 2006.

Tan cerca como ellos, del personal del animalario.

Anúnciese en ANIMALES DE LABORATORIO, la revista en habla hispana más importante del sector y posicione sus productos directamente en manos de los animalarios.



† Foto Shutterstock



sociedad española
para las ciencias
del animal de laboratorio

www.secal.es

Cuando la trazabilidad es una necesidad SOURALIT es su garantía

SOURALIT

Madera no resinosa

Mínima presencia de polvo

Gran capacidad de absorción

Presentaciones irradiadas envasadas al vacío

Análisis microbiológicos y físico-químicos de los lotes entregados



Sergi Vila Bellmunt

Técnico de laboratorio de experimentación animal (CIBERhd) y gestor de la web de SECAL

Sociedad Española para las Ciencias del Animal de Laboratorio (SECAL) ¿Qué opinión te merece nuestro colectivo?

Soy socio de SECAL desde 2011, a raíz de una oferta laboral cuyo requisito era la formación en bienestar animal. Me puse en contacto con Joana Visa, responsable de bienestar en el IDIBELL, quien me atendió amablemente y me puso al día del mundo de la ciencia del animal de laboratorio.

En estos 4 años, formar parte de SECAL me ha permitido estar en contacto, ya sea a través de SECAL-L, de la revista Animales de Laboratorio, jornadas, congresos, etc., con profesionales que trabajan en el mismo ámbito.

Para empezar, ¿cuál es tu experiencia en el mundo del animal de laboratorio?

Realicé la formación en categoría Ba distancia en el CEVUG. En 2010, empecé a trabajar con ratones en el PEBC y desde 2012, estoy en un grupo CIBERhd en el Laboratorio de Hemodinámica Hepática de Barcelona en el Clínic de Barcelona, donde trabajamos con modelos animales para enfermedades del hígado.

¿Cuáles es tu actual rol en la página web de SECAL?

Este año, he empezado la gestión de la página web y las redes sociales.

Mi rol consiste básicamente en presentar los contenidos de cursos, actividades y noticias que nos llegan y hacer que éstos sean visibles para los socios y visitantes.

Las redes sociales y la era de la información han modificado la realidad comunicativa. En este sentido ¿qué futuro le espera a la web de SECAL?

Hace 10 años se empezó a gestar la web 2.0. En esta última década, se ha pasado de disponer de páginas estáticas a páginas



dinámicas, donde los contenidos se actualizan y enriquecen con las aportaciones de los usuarios.

En este sentido, hemos activado la cuenta de Twitter @secal_t, que os animo a seguir y compartir contenidos.

Otro aspecto que podremos ver en el futuro, es que con pocos medios es posible difundir vídeos, de esta forma eventos de interés común se podrían retransmitir por streaming. El futuro es móvil, por eso la web es "responsive": se adapta a los diferentes dispositivos: monitores, tablets y móviles.

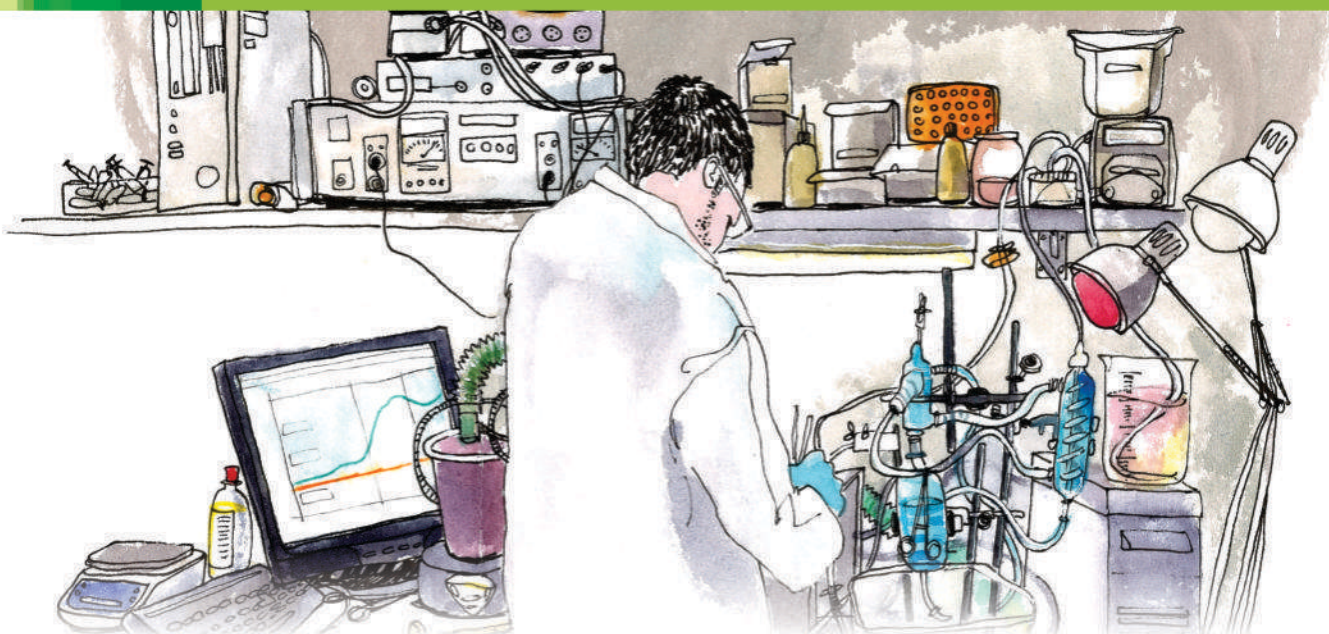


Ilustración: Cristina Curto / Sketching científico IDIBAPS

¿Qué beneficios puede traer para SECAL el desarrollo de una página web más completa e interactiva?

Nuestra comunidad comparte la misma herramienta de trabajo y genera constantemente conocimiento. La página web debe ser una plataforma que aglutine todos estos aspectos y permita que nos conozcamos más entre nosotros, encontremos puntos en común y podamos crear sinergias positivas. También debe ser una puerta al resto del mundo. Cada día aparecen nuevos recursos y aplicaciones que nos ayudan a ordenar cantidades ingentes de información, catálogos como el OMIM, ORPHANET, MGI o IMPC, y que permiten hacer visible todos estos recursos para que en el momento adecuado el personal que trabaja en experimentación animal pueda tener acceso a ellos.

Nuestros lectores directos de la revista son los socios de SECAL, pero la web tiene lectores de todo el mundo. ¿Qué consideras que deberíamos hacer como sociedad para que, por medio de la web, tengamos más solicitudes de inscripción a nuestra sociedad?

Por una parte, la web debe tener un perfil divulgativo para el gran público en el que pueda encontrar información abierta y transparente sobre la necesidad de los animales para la investigación y la ciencia que hacemos en España. Puede ocurrir que una cierta relajación en este tema provoque, con el tiempo,

desconocimiento de cómo es la experimentación animal y se creen falsos mitos y desinformación.

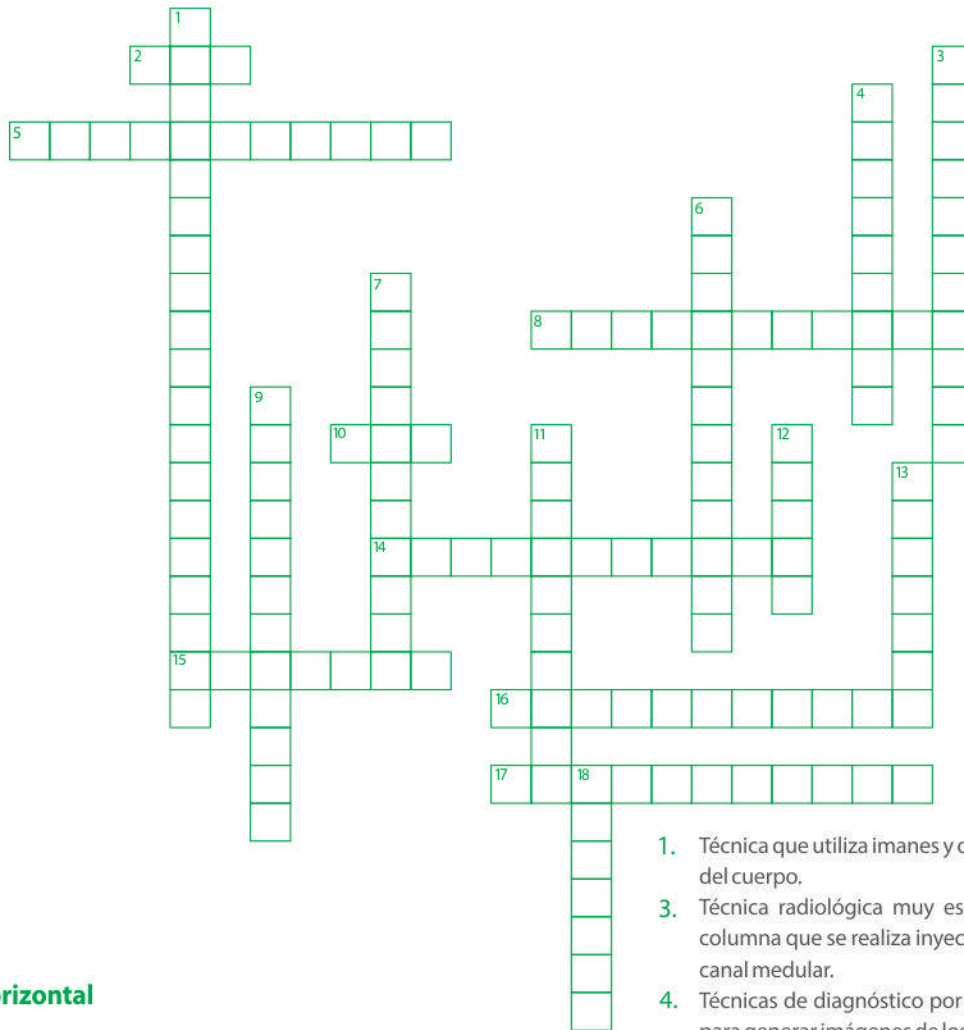
Por otra parte, la web debe seguir ofreciendo contenidos de calidad y actualizados, y seguir siendo un espacio de referencia para todo el personal relacionado con las ciencias del animal de laboratorio y para el mundo científico en general.

Solemos terminar estas entrevistas con la voz propia del entrevistado y por ello le dejamos espacio libre para una reflexión.

Xavier Lasauca, un gran comunicador de la ciencia 2.0, en una entrevista reciente decía que "la primera impresión es que la dedicación a los medios de comunicación social puede parecer una pérdida de tiempo. Pero hay que tener en cuenta el retorno de esa inversión".

Todos los ámbitos de nuestra vida se han ido digitalizando: el comercio, la banca, las comunicaciones personales, la prensa, la educación... ¿Y la ciencia de los animales de laboratorio en España? Mi reflexión es que como actores activos de esta transformación seamos partícipes compartiendo nuestro día a día a través de los medios que ofrece SECAL.

Para acabar, comentar que para cualquier duda o sugerencia me podéis encontrar en enlaceweb@secal.es.



Horizontal

- 2. Tomografía por Emisión de Positrones (voz inglesa).
- 5. Técnica que mediante la captación de la radiación infrarroja, permite medir temperaturas exactas a distancia y sin necesidad de contacto físico con el animal.
- 8. Prueba de diagnóstico por imagen cuya función es el estudio de los vasos circulatorios que no son visibles mediante la radiología convencional. Para hacer visibles las arterias, se inyecta un colorante llamado "contraste".
- 10. Tomografía axial computerizada.
- 14. Técnica de exploración de las cavidades articulares que permite ver, realizar tomas de biopsias y pequeñas actuaciones terapéuticas.
- 15. Plano vertical que divide el cuerpo en posición anatómica en secciones ventral y dorsal.
- 16. Perteneciente al mismo lado del cuerpo.
- 17. Prueba diagnóstica que emplea rayos X para su realización.

Vertical

- 1. Técnica que utiliza imanes y ondas de radio para crear imágenes del cuerpo.
- 3. Técnica radiológica muy especializada para el estudio de la columna que se realiza inyectando un medio de contraste en el canal medular.
- 4. Técnicas de diagnóstico por imagen, que emplea ultrasonidos para generar imágenes de los distintos órganos.
- 6. Método de obtención de imágenes de rayos X en tiempo real de las estructuras internas.
- 7. Técnica diagnóstica que utiliza isótopos radiactivos para visualizar las estructuras del organismo.
- 9. Técnica que utiliza los ultrasonidos para medir la elasticidad, la dureza relativa de unos tejidos con respecto a otros.
- 11. Técnica diagnóstica que consiste en la introducción de una cámara dentro de un tubo a través de un orificio natural, una incisión quirúrgica o una lesión para la visualización de un órgano hueco o cavidad corporal.
- 12. European College of Laboratory Animal Medicine.
- 13. Plano vertical perpendicular al suelo que divide el cuerpo en posición anatómica en mitades izquierda y derecha.
- 18. Tipo de ecografía con la que se estudia el flujo de sangre que pasa a través de las arterias y venas, y que permite conocer su cantidad, velocidad y consistencia en un momento concreto.



Powering your research development



Profesionales al servicio de la investigación

Servicios integrales para Animalarios

Externalización de servicios de Animalarios

Formación de personal

Diseño de Instalaciones

Alquiler y gestión de Instalaciones

Consultoría y Asesoramiento



www.vivotecnia-ms.com



The Weight is Over.

No longer do you need to spend your time conditioning research models. There is now an immediate solution - Preconditioning Services from Charles River. Whether preparation for your study requires feeding special diets, aging of animals, phenotypic evaluations, or surgical manipulations, Charles River can provide you with animals preconditioned to your parameters and ready for use when they enter your facility.

For more information, please contact us at services@eu.crl.com



Referencias disponibles bajo demanda.

Rendimiento probado
de líneas celulares.

Tal como demuestran publicaciones de las más reconocidas instituciones investigadoras de todo el mundo, los modelos oncológicos de Harlan Laboratories ofrecen especificaciones de alta calidad, dietas y servicios de asistencia que pueden necesitar en su investigación contra el cáncer.

Para más información, visite nuestra Web www.harlan.com/oncology.

Modelos

Dietas

Servicios



www.harlan.com

©2010 Harlan Laboratories, Inc.
Harlan, Harlan Laboratories, Helping you do research better, and the Harlan logo are trademarks of Harlan Laboratories, Inc.