

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**MANEJO DE UN MODELO ANIMAL DE
INVESTIGACIÓN.
CASO OVINOS EN BIOTERIO
(REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA)**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

RICARDO NETZÁHUALCOYOTL MEJENES LÓPEZ

ASESORES:

M en C. Arturo Ángel Trejo González

M en C. José Alfredo Cuéllar Ordaz



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

-Objetivo	2
-Prologo	3
-Introducción	5
-Justificación	7
-Biología del ovino	11
-Instalaciones y medio ambiente	15
-Sujeción del ovino	19
-Identificación del modelo ovino	24
-Nuevos paradigmas en la investigación	28
-Preparación para la cirugía	29
-Eutanacia	37
Corolario	40
--Bibliografía	43
Anexos	49
Glosario	59

Objetivos

- Realizar una investigación de campo y bibliográfica sobre el uso de los ovinos como animal de Bioterio.

- Realizar una descripción de manejo, cuidados, del ovino alojado en el bioterio del Instituto Nacional de Rehabilitación.

- Dar información precisa para consulta y desarrollo de protocolos de investigación en los cuales los ovinos sean un modelo animal en investigaciones médicas y quirúrgicas.

I.- Prologo

Este trabajo resulta importante ya que es el resultado de las experiencias acumuladas durante la función laboral en el bioterio de instituto nacional de rehabilitación, apoyando en el manejo, cuidados, alimentación, acondicionamiento de áreas para su alojamiento, prepararlos animales para su utilización en los protocolos de investigación que son aceptados por la comisión de bioética (cicual), el comité interno para el cuidado y uso de animales de laboratorio como existen en otras dependencias o instituciones de investigación además por las prioridades de las línea de investigación del instituto, y que si no se tiene los debidos cuidados como lo dicta las normas sean nacionales o internacionales ponen en duda la veracidad del trabajo de investigación de este instituto; por ende resulta motivador y de suma importancia realizar este trabajo de tesis y hacer como un aproximado al manual de manejo de ovino en bioterio, dadas las circunstancias de los tipos de trabajos que se planean realizar con este modelo animal, dignificando a la profesión, al área y esta especie en esta área de la ciencia médicas y tecnológicas.

Por otro lado el aporte que da el médico veterinario zootecnista en esta rama del conocimiento, por su preparación y formación, pesa para la formación del equipo de trabajo en las líneas de investigación, además de beneficiar a la medicina veterinaria y la medicina humana al obtener conocimiento nuevo. En este intento de escribir este esbozo y de la experiencia acumulada que se da en algunos bioterio de México, y aplicando la formación dada por la fes Cuautitlán contribuyendo al desarrollo científico, incorporándose a los equipos de trabajo y cuidando en lo posible el bienestar animal.

III.- Introducción

El ovino es de las primeras especies que fueron domesticadas hace más de 10,000 años. La historia de los ovinos en bioterio quizás no es muy larga pero si se ve desde otra perspectiva más amplia, se visualiza que siempre ha estado desde sus inicios en la civilización humana, no solo como alimento y el huso de su lana y piel además como moneda de cambio y dote para la uniones matrimoniales, dando un aporte más; pero tan solo nombrar a los eritrocitos sensibilizados a ciertas hormonas, o como obtención de sangre desfibrilisada para medios de cultivos bacterianos, además de la oveja Dolly primera en clonar etc. Dando un impulso a la ciencia trascendental.



La oveja Dolly

Siempre que se realizan investigaciones en cualquier instituto o centro de desarrollo tecnológico y médico; se busca un modelo animal, en el cual sea lo más cercano al humano, ya que siempre se tiene una polémica al respecto; (tema que es de otra área), abunda muchas referencias científicas que tratan el tema y solo comentan ciertas bases bioéticas, para seguir el desarrollo de trabajos, pero no en si detallan en el manejo, ya que existe pocas referencias.

La intención del estudio descrito será proporcionar información y rutina laboral, de carácter general, básico a especializado y el manejo en bioterios, y del uso de borregos experimentales, como modelo para conducir estudios científicos (por ejemplo, para el soporte del desarrollo de protocolos y estudios ortopédicos; desarrollar ingeniería de tejidos in vivo y de obtención de células precursora de células madre de ovino).

Los autores de artículos científicos han clasificado el fundamental aspecto que deben ser evaluados cuidadosamente al usar ovejas como modelo experimental en la investigación (ortopédica y áreas afines), además factores relacionados en la anatomía y la formación del hueso; y factores que afectan determinadamente a la fisiología del hueso, tal como absorción gastrointestinal del mineral y de la vitamina, y ciclo reproductivo. Las investigaciones futuras deben tratar todos de los aspectos destacando, pues, como no hay animal con el mismo tipo anatómico, bioquímico, fisiológico, biomecánico y biológico característico como los de seres humanos. Por otra parte, los datos útiles para tratar a pacientes ortopédicos se basan no sólo en el buen planeamiento y estudios de diseños, pero también en el conocimiento perfecto del animal usado y de las diferencias del medio en el modelo y el ser humano. Los trabajos que contribuyen a la extrapolación de datos confiables para el uso de ovejas en ortopedia y coloque al modelo animal en uso de la investigación médica ya descrito en libros, normas y artículos científicos.

Justificación

La utilización de animales como modelo de observación de fenómenos biológicos evoluciona con el hombre, ha permitiendo el desarrollo de conocimiento en áreas como son las ciencias biomédicas y biológicas.(Hernández; S, 2006.) (24)

El objetivo es contribuir a difundir los principios éticos y las buenas prácticas de laboratorio que rigen el manejo y uso de los animales de experimentación en la investigación biomédica. En la investigación biomédica han contribuido en logros importantes avances del conocimiento científico y médico. La ciencia de los animales de laboratorio ha alcanzado un alto nivel de desarrollo con el fin de lograr un trato humanitario a los animales y mejorar la calidad de las investigaciones. A pesar de contar con modelos alternativos, existen pruebas las cuales continúan siendo insustituibles; El diseño de los experimentos que los utilizan exige la definición detallada de las características genético-sanitarias y ambientales, así como una actitud ética y moral frente al uso de seres vivos. Solo de esta manera se podrán obtener en las investigaciones resultados válidos, confiables reproducibles y comparables. (Hernández; S, 2006.) (24)

Tabla 1: Número de artículos en promedio /al año en la literatura biomédica citando el uso de ya sea humano o diferente especies animales en el período 1991-2000(35)

Número de artículos en promedio o de trabajos /al año	Géneros .
47752	Humano
20719	Rata
13233	Ratones
4825	Vaca
4117	Cerdo
2700	Ovejas
996	Monos
412	Cabras

Caroline McMillen, ANZCCART News June 2001 Vol. 14 No 2

Biología del ovino.

El ovino es un pequeño rumiante, con pesos vivos adultos entre 20 y 150 kg dependiendo de la raza, sexo, edad y estado de gordura. Es un animal de producción múltiple. De él se aprovecha, lana, carne, leche, cuero, piel, abono y combustible. Sin duda la producción de lana es muy típica de la especie, existiendo también ovinos deslanados. Son muy adaptables a casi todos los climas y condiciones de explotación. Es una especie de ciclo corto. Las hembras tienen capacidad para reproducirse generalmente en una época del año (otoño), poliéstrica estacional, con ciclos sexuales cada 17 días, una gestación de 147+/- 4 días y una lactancia entre 4-8 meses. Son capaces de producir entre 1-5 corderos por parto, que son frágiles, con pesos al nacimiento entre 2 y 6 kg dependiendo del tamaño de la madre y del padre, su estado general y tamaño de la camada. Es muy selectivo en su ingesta de pasto y, dada su estructura bucal y comportamiento, puede cortarlo muy cerca del suelo, provocando procesos de deterioro del recurso pradera cuando el hombre permite el sobrepastoreo. Sus pezuñas, que ejercen menos presión que la del bovino por cm², son también apropiadas para terrenos escarpados y de topografía ondulante. Hay razas en todos los continentes y climas del mundo. El ovino posee una dentadura temporal y permanente, como se indica en la siguiente tabla más adelante. (Hervéet *al.*, 2007; Escobaret *al.*, 2007; Fernández *et al.*, 2007.) (26)

CLASIFICACIÓN ZOOLOGICA DE LOS OVINOS (32)

Reino	animal
Filum	cordados
Subfilum	vertebrados
Clase	mamíferos
Subclase	artidáctilos
Familia	bóvidos
Género	Ovis
Especie	aries
Denominación	Ovisaries

Peso vivo: Varía según la raza y la edad:

- Laneros: 40 a 50 kg.
- Doble propósito: 50 a 60 kg.

Temperamento Tranquilo, asustadizo y siempre alerta. Son de gran Mansedumbre cuando se los cría “con biberón” desde recién nacidos. (32)

Rusticidad: Es extraordinaria, compite con la cabra en cuanto al medio y tipo de alimentación. (32)

Longevidad: Se conocen límites de hasta 18 o 20 años. (32)

Vida útil: Desde los primeros días de vida hasta los 8 o 9 años.(32)

Rol: El ovino es, esencialmente, un productor de lanas, cueros, carne y leche. (32)

Talla: Desde la cruz al suelo:

- Laneros y lecheros: aproximadamente 75 cm. (32)

- Carniceros; aproximadamente 55 cm. (32)

Adaptación al medio: Resulta un corolario de las dos anteriores.

Instinto gregario: Se conoce con ese nombre a la tendencia a vivir en agrupaciones. Tiene ventajas en la conducción de los rebaños. (32)

Hábitos de pastoreo: El pastoreo se realiza con mayor intensidad durante el día (65%). Se estima que el ovino hace un fraccionamiento de aproximadamente 8 turnos. Los intervalos son destinados al descanso y la rumia que tienen lugar preferentemente, hacia las horas de mayor temperatura ambiental, o de la noche. (32)

Capacidad de marcha: Generalmente los desplazamientos no exceden de los 3.000 a 4.000 metros diarios en busca de alimento o agua, para casi todas las razas. (32)

Temperatura corporal: Tomada sobre la piel oscila alrededor de los 39^a C, la rectal supera ligeramente los 40^a C. (32)

Raza: Grupo de animales que se diferencian de una especie por sus características morfológicas (visibles) y fisiológicas (productivas) y que además comparten origen común y transmiten estos caracteres a su descendencia. (32)

Cruza: Animales que surgen a partir del apareamiento de animales de distintas razas. Generalmente se realiza con fines productivos. (32)

Vigor híbrido: se logra a partir de la cruce de dos ejemplares de distintas razas o de una misma raza siempre que no estén emparentados. Desde el punto de vista genético, los animales que resultan del cruzamiento de razas, evidencian cierto aumento del vigor como consecuencia de la combinación de genes útiles de ambas razas, y los genes indeseables de cada una tienden a ser eclipsados por ser recesivos. En este choque de sangre o cruzamiento tiene lugar el aumento de vigor, índice de crecimiento y eficiencia de producción. (32)

El objetivo de estas categorías es mejorar el promedio de las aptitudes productivas, sanitarias, carácter, prolificidad, precocidad, conversión alimentaria, adaptación al medio, etc.(32)

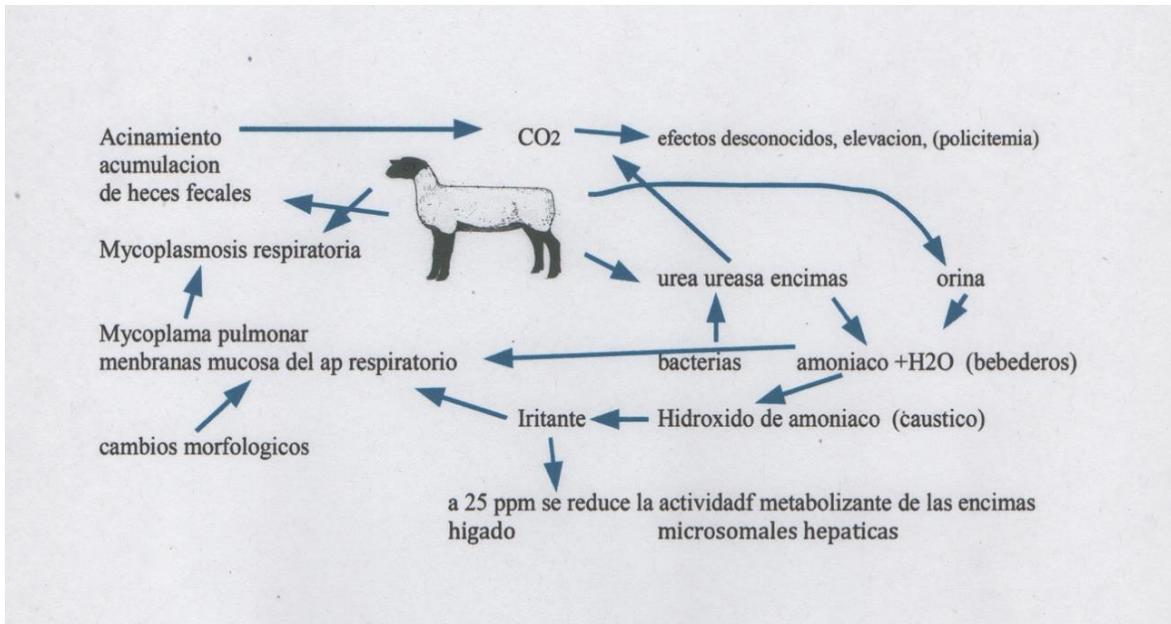
Cruzamientos es el apareamiento de animales de distintas razas. Ninguna raza es superior en todos los caracteres, como prolificidad, precocidad, calidad de la canal, producción de lana, etc. Existen marcadas diferencias de una raza a otra en lo que respecta a la mayoría de los caracteres. Conociendo esta circunstancia, las ovejas de tipo lanero pueden ser servidas con carneros grandes y musculosos de tipo carnicero. Esta cruce, por ejemplo, provecha tanto la producción superior de lana como el alto porcentaje de corderos y el rápido ritmo de crecimiento. Los descendientes son casi siempre intermedios, o sea, un término medio, entre los dos progenitores. Sin embargo puede ocurrir, si se expresa el vigor híbrido, que las crías serán mejores que el promedio de ambos antecesores, pero no necesariamente superior al mejor progenitor. El vigor híbrido se expresa por la aptitud lechera, ritmo de crecimiento, supervivencia y prolificidad, pero aporta poco perfeccionamiento en cuanto a la calidad de la lana y producción de carne. La mayoría de los corderos de invernada temprana se producen mediante cruzamientos. (32)

OBSERVACIONES Y CONSIDERACIONES PARA EL PERSONAL RESPONSABLE DE LOS OVINOS ALOJADOS EN BIOTERIOS

Oveja doméstica (*Ovis aries*) es pequeño rumiante, por lo tanto, el diseño de instalaciones y la cría deben ser consistentes con los comportamientos, necesidades de nutrientes, usar, y la fisiología de cada especie. Para optimizar resultados, las personas que cuidan a estos animales debe estar bien entrenado, tener educación adecuada, certificaciones o la experiencia necesaria. (McGlone., et al., 2010);(35)

INSTALACIONES Y MEDIO AMBIENTE

El sistema es apegado a normas nacionales e internacionales como es requerido en bioterios, en todo esto es requerido un mínimo de instalaciones que permitan controlar a los animales durante su manejo así como se han hecho necesario contar con un corral-patio y encierros individuales como uno grande para las necesidades emocionales y sociales de estos individuos; las consideraciones ambientales. Que se describirán, algunas características no deseables en las instalaciones de ovinos, que han sido adaptadas de aquellas dedicadas a otra especie, cerdos etc, que por diversas circunstancias, se abandonan. Lo anterior puede generar problemas como mayor gasto de inversión áreas que no se pueden adaptar, y que quedan ociosas causando problemas diversos a los animales, no obstante cualquiera de los eventos o situaciones anteriores o el uso de instalaciones mal diseñadas para encierro, crea condiciones particulares en el ambiente (**Cripto clima**) es el clima de pequeño espacio cerrado; es la menor subdivisión del clima, que rodea al animal y afectando el bienestar de estos, el alojamiento que generan los problemas micro-ambientales en los encierros , surge de la mezcla de factores , como la falta de ventilación, generado por la poca altura de los techos, acumulación de heces, y orina, que ocasiona la acumulación de humedad y la producción de gran cantidad de amonio que favorecerán la reducción de micro-organismos patógenos que pueden provocar problemas respiratorios, digestivos o de patas. (19)



Figura__ Factores que determinan el Cripto-clima de los ovinos.

Las ovejas son utilizadas en la investigación y la enseñanza, pueden ser producidas y manejadas bajo una variedad de condiciones ambientales incluyendo edificios cerrados, lotes secos, pastos y remotas tierras. Independientemente del entorno de producción, el sistema de gestión debe ser apropiado para la búsqueda de nuevos objetivos de enseñanza y velar por que los animales sean cuidados adecuadamente. Debido a su capacidad de adaptación y el valor aislante de lana y pelo un refugio artificial para el ganado ovino puede ser y no ser necesario. Las necesidades específicas de un refugio deben tener en cuenta la geografía, medio ambiente, el clima, y la temperatura.

Para protegerse del viento, el frío y el sol, las ovejas y cabras suelen buscar refugio cerca del terreno y estructura turas, tales como árboles, arbustos, cunetas, cantos rodados, crestas, y cortavientos artificiales. (3)(7ª)

Un refugio para pequeños rumiantes deberá proporcionar calor, sombra, protección del viento y la precipitación. Cuando se proporcionan graneros o cobertizos, deben tener una ventilación adecuada y estar lo más limpio posible con un ambiente seco y de esta manera se mejorará la calidad del aire, lo que

proporcionara comodidad al animal y se reducirá la incidencia de enfermedades(1). Por lo que existen publicaciones con los lineamientos para las instalaciones, (23), (23),(18), (24).

Caroprese2008)ha estudiado las instalaciones para ovino y los factores que determinan que se requiere son principalmente: Pastoreo o estabulación, tipo de alimento suministrado y las condiciones meteorológicas de una región.

El espacio requerido por animal depende en la intención de la investigación y la enseñanza, el tipo y pendiente del suelo o superficie del terreno, las condiciones climáticas y el tamaño del grupo. El tipo de piso y el área de terreno requerido varían considerablemente entre localidades, dependiendo de las condiciones, la cría y manejo. Estimado recomendaciones mínimas de área para ovejas confinadas son listadas en la tabla __ (MBPS, 1994), la oveja Vivienda Equipos y Manual (MWPS, 1994).

Los suelos aceptables incluyen suelo compactado bien drenado, hormigón antideslizante, pisos de hormigón armado de listones o esteras composición, madera y metal expandido o tejido de suelos de metal u otros materiales que permiten la adecuado equilibrio y confort para los pequeños rumiantes. Cuando tienen acceso a los lotes o pastos fuera, se requiere un área protegida es de 0,5 m² por animal (Kilgour y Dalton, 1984). La alimentación en el establo de pequeños rumiantes lecheros requiere 1,5m²/ animal (Kilgour y Dalton, 1984). Ovejas y cabras son relativamente intolerantes al lodo, por lo que se puede mejorar el bienestar drenado los corrales. Existen diferentes alternativas para pisos, la piedra triturada, el tezontle y otros. El control del polvo en los corrales puede reducir problemas respiratoria y otros problemas de salud y mejorar la calidad del vellón. la superficie de pisos, apriscos, pastos y otros recintos pueden afectar el desgaste del casco y de la salud. Por lo tanto, un cuidado de los cascos con un programa efectivo es un componente importante en ovino y caprino para un adecuado manejo y bienestar, aunque esto es de vez en cuando se suele pasar por alto cuando las ovejas y las cabras se mantienen en el interior del corral por períodos

prolongados Suministro de alimentación adicional y protección contra el viento y la precipitación debería suspenderse si los animales experimentan temperaturas extremas. (60)

Las relaciones entre las condiciones ambientales y la nutrición se han descrito (NRC, 1981), dentro de las instalaciones de producción intensiva, la ventilación y el diseño estructural deben evitar la condensación de humedad durante el tiempo frío, proporcionar refrigeración durante el tiempo caliente, y asegurar que el aire si cumple los estándares de calidad. En cuanto a las necesidades de agua de las ovejas, se aumenta durante el clima cálido y húmedo, y es esencial que los animales tengan acceso a un suministro adecuado de agua potable (Degen y Young, 1981). Ecuaciones establecidas pueden ser utilizados para estimar las necesidades de agua bajo una variedad de condiciones (NRC, 2007). Información adicional está disponible en la sección de alimentación y agua de este capítulo. (60)

Los pequeños rumiantes pueden necesitar atención especial cuando las tasas respiratorias aumentan en respuesta a un aumento de aire caliente. Durante el tiempo caliente, manejo o conducción de ovejas o cabras debe limitarse a las horas más frescas de día. Morrison, 1983; Webster, 1983;(60)

SUJECIÓN DEL OVINO.

La captura y el control del ovino

Un grupo de ovejas puede ser conducido a un corral de recogida o una manga desde donde los animales individuales pueden ser capturados. Acercarse a un animal desde el lado y tratar de sobornar con algún tipo de alimentación y ser rápido para atrapar al animal de las piernas o el cuello. Obtener ayuda para sujetarlo firmemente para que pueda examinar la cabeza, el cuello, los ojos y otras partes del cuerpo. Los animales adultos grandes y corderos pueden tomarse sujetando la cabeza. La técnica más sencilla de mantener una oveja es de la siguiente manera. (58)

- Agarre el animal por el cuello o la parte superior de una pata trasera. Ponga su mano derecha en su hocico y haga girar la cabeza lentamente, pero con firmeza hacia los lados. El animal se caerá al suelo. Desplazarlo en una posición sentada con él ligeramente inclinado en contra de sus piernas manteniendo sus pies del suelo.

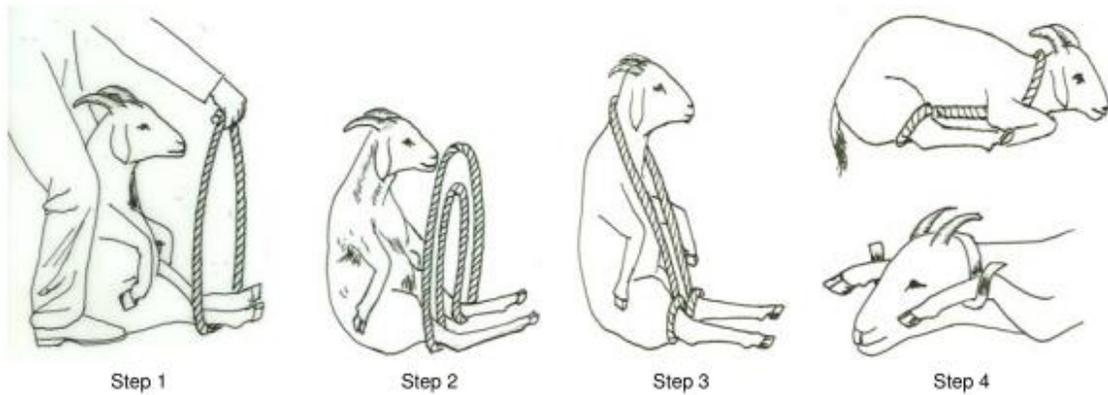
El animal debe estar ahora relajado y se puede examinar su ubre o testículos, recoger varias muestras tales como garrapatas, piojos y otros parásitos externos, extraer la sangre de las venas yugulares o del oído, recortar sus cascos etc. (58)

Una forma alternativa de manejar una oveja o cabra s una posición sentada. En primer lugar, llegar bajo el vientre y tirar suavemente de las dos piernas más alejados hacia usted, con el animal en su lado inclinarse para coger ambas patas delanteras, y girar el cuerpo hacia usted de modo que se asienta en su parte inferior, como en la figura __, Paso 3. (58)

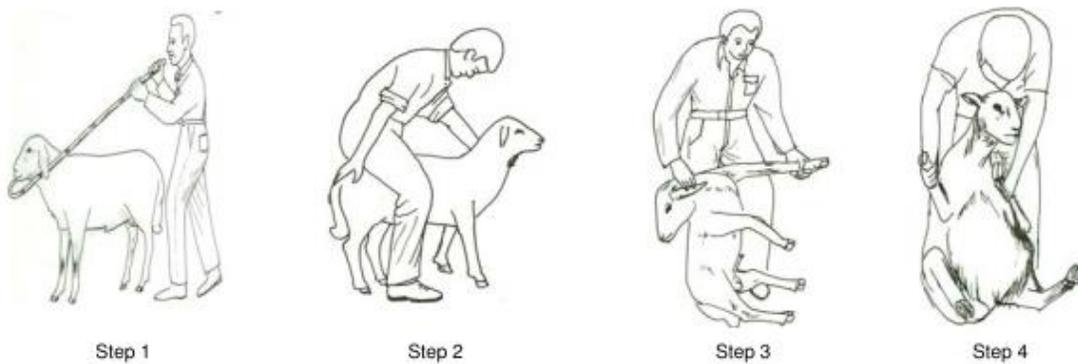
Para restringir una oveja o cabra en una posición de pie, con la cabeza puede ser mantenida en un bucle de la cuerda o cadena fuerte. El bucle debe ser de unos 50 cm de circunferencia y atado a un árbol o un poste en la misma altura que el hombro de la oveja. Atar un nudo que no se deslice pero sostiene el bucle en un tamaño fijo lo que impide al animal de ser estrangulado. La captura y sujeción de

los ovinos es fácil cuando se tienen collares. En estas condiciones, puede simplemente recoger muestras fecales directamente del recto y otras muestras de diferentes sitios preferidos.(58)

Los animales también pueden ser restringidos en una posición de pie usando un collar, El cuello está atrapado entre dos piezas en posición vertical.(58)

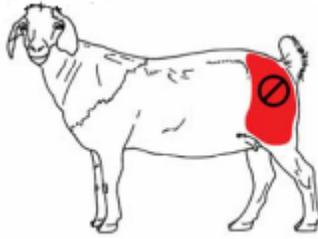


. (Yami, et al 2008; Merkel, et al2008.). (58)

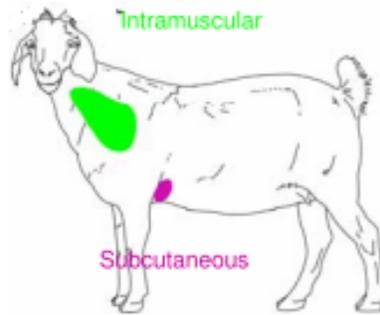


. (Yami, et al 2008; Merkel, et al2008.). (58)

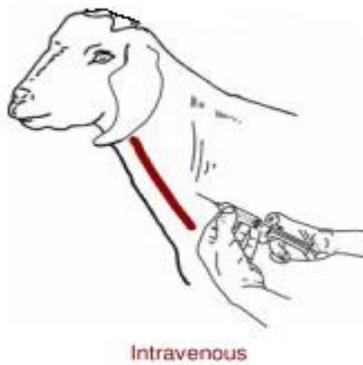
Manipulación vías de inoculación y aplicación de medicamentos



. (Yami, et al 2008; Merkel, et al2008.). (58)



. (Yami, et al 2008; Merkel, et al2008.). (58)



. (Yami, et al 2008; Merkel, et al 2008.). (58)

Trasquila



Trasquiladora del Bioterio, práctica y rutina del manejo del equipo.



Rasurado o tricotomía.

Identificación del modelo ovino

En el caso concreto de la oveja, Investigadores australianos ha destacado su potencial en las investigaciones biomédicas y sobre todo para patologías respiratorias, (también en modelos ortopédicos recientemente). La anatomía y fisiología de su aparato respiratorio se asemeja más al hombre que el de los roedores y a sido propuesto para como un buen modelo para estudios de vacunas, es un animal grande (30-90 Kg. Según razas y sexo) del que se conoce bien su anatomía y fisiología es fácil de canular (con buena sujeción y posicionamiento) y es posible tomar muestras abundantes y/o frecuentes. Asimismo, es muy útil en el ensayo de técnicas quirúrgicas, mediciones de determinados parámetros respiratorios y otras muchas más actuaciones que no se pueden llevar a cabo en roedores. Todas estas peculiaridades ventajas harían de la oveja un animal óptimo especialmente en la investigación de algunas patologías. (De las Heras; 2010). (14)

Estudios en esta especie han hecho posible el desarrollo de técnicas para perfeccionar los implantes para la desviación arteriovenosa por medio de la cual los pacientes con falla renal pueden ser sometidos a diálisis por largos períodos de tiempo. (14)

De acuerdo con Davidson et al. La selección del modelo animal para investigación debe ser basada siguiendo consideraciones u observaciones: 1.) analogías apropiadas o similitudes. 2.) información trasferible a otros modelos. 3.) estándar genético del organismo donde se aplicara. 4.) conocimiento sustentado de propiedades biológicas. 5.) costo beneficio. 6.) resultados replicables o reproducibles. 7.) Fácil de adaptar y manipular experimentalmente. 8.) ecológicamente consecuente y 9.) Con aplicación ética y moral. (8)

Los criterios para la selección o el rechazo de modelos animales en particular, debe también, incluirá la práctica habitual dentro de la disciplina de trabajo; en particular, la existencia de enfermedades o condiciones que podrían complicar los resultados, en contexto del cuerpo de conocimiento existente, es

decir, en el problema en cuestión, y características especiales del animal, que puede hacer que una especie en particular sea adecuadamente útil. (8)

Las ovejas son un modelo animal de gran tamaño conveniente para la investigación biomédica debido a la disponibilidad, facilidad de manejo y resguardo, el costo del animal/año, y la aceptación de sociedades como animal de investigación. En la investigación ortopédica, las ovejas son un modelo bien aceptado para estudios in vivo: Aunque la anatomía de los cuadrúpedos es bastante diferente que los seres humanos, y es útil para hacer frente a los procesos biomecánicos, bioquímicos e histológicos de hueso biológicamente hablando. Debido a las similitudes con los humanos en peso, tamaño, proceso de la estructura ósea y articular y la remodelación ósea. (8)

Por otro lado, aunque los roedores pueden ser menos caro, tienen diferente morfología ósea, y a menudo son demasiado pequeños en tamaño a prueba los materiales degradables en los huesos, especialmente en combinación con la fijación interna y la reparación de fracturas ya que son demasiado pequeños para ser fácilmente usado como un modelo para estudiar implantes de reemplazo de articulaciones. Sin embargo las ovinos que no son los más adecuados para estudios que involucran la absorción oral de fármacos, debido a su diferente sistema, gastrointestinal y la falta de la menopausia natural, los ciclos normales del estrógeno restringidos a otoño y el invierno y cambios estacionales en el metabolismo óseo son fisiológicos tienen desventajas, si las ovejas se utilizan para establecer un animal modelo para la osteoporosis. Todos los materiales destinados a la aplicación como biomateriales, dispositivos médicos o prótesis experimentan, tejido-respuestas cuando se implantan en tejidos vivos. (8)

Los recientes avances en biomateriales ciencia tienen centrado en el control de las respuestas biológicas y la comprensión de las interacciones celulares con superficies sintéticas, en particular en el contexto de la respuesta inflamatoria y curativa. El desarrollo de nuevos métodos para evaluar las interacciones entre superficies de hueso-implante ha sido un objetivo principal de cirugía ortopédica y

oral y varios fenómenos que han sido investigados, tales como biocompatibilidad, osteointegración, la adhesión celular, osteoinducción y osteoconducción, todos los cuales tienen amplias aplicaciones en in vitro e in vivo. Por otro lado, hoy es una búsqueda de la mejor superficie del implante y geometría para aumentar la adhesión y el crecimiento óseo. Por este motivo y razón del uso de modelos animales es a menudo un paso esencial en la prueba de los implantes ortopédicos y dentales antes para el uso clínico en seres humanos (13-15). El uso de las ovejas como modelo en el proceso de remodelación en *cancelously* hueso cortical para la evaluación de nuevos biomateriales ortopédicos ALS y los implantes [LO-ZL], en estudios biomecánicos y como modelo para construcciones óseas ingeniería tisular se han descrito. (8)

En algunos artículos se describen los procedimientos quirúrgicos complejos que requieren el ovino como modelo animal para estudiar la biocompatibilidad de nuevos biomateriales y probar nuevos conceptos y en implantes caderas construidos en PEEK-carbono o fabricados en el momento de la cirugía y también para evaluar la consolidación con hueso la producción o la regeneración ósea guiada en el implante-interfaz hueso utilizando varios diferentes andamios y topografías en nanos. ((1),(29),(32),(8).

Los pequeños rumiantes han sido por tradición considerados como animales de granja o agrícolas con muy poca conexión con la investigación biomédica y la ciencia del animal de laboratorio (Reh binder y O brink 1997). El uso de pequeños rumiantes en la investigación biomédica, sin embargo, tiene una larga tradición y cómo producir animales libres de gérmenes se han descrito ya en 1913 por Kuster (ver] uhr 1976). Desde el finales de los cincuenta, han sido publicado varios informes sobre estando libre de gérmenes los terneros gnotobióticos, ovejas y cabras. (50)

Hoy en día el uso de los terneros, ovejas y cabras en la investigación biomédica está aumentando. Ellos pueden, en cierta medida sustituir tradicionalmente a animales de laboratorio, incluidos los perros (FELASA1998), en

los campos de la cirugía, genética, fisiología, técnicas de trasplante, endocrinología y la biotecnología (Kuster 1913, Tavernor et al. 1971, Alexander et al. 1973, Leader & Stark 1987, Fowler et al. 1993, Bruns et al. 1996, Tulamo et al. 1996, Pennisi et al. 1997, Wilmut et al. 1997). Un gran número a veces es un factor crucial haciendo que el animal de laboratorio tradicional (roedores y lagomorfos) sean menos adecuados. La salud de un animal es siempre un riesgo a partir de una variedad de infecciones, ya sea clínicamente se vea manifiesto o no, los agentes infecciosos pueden producir efectos que pueden incidir sobre y cambiar el resultado de experimentos y tratamientos. (50)

Dependiendo de la infección específica y una variedad de factores biológicos los parámetros pueden ser afectados como comportamiento, tasa de crecimiento, pesos relativo de órganos, respuesta inmune, desarrollo tumoral, etc. Las infecciones subclínicas también pueden conducir a la contaminación de los materiales biológicos, cultivos de tejidos, tumores trasplantables para investigación y productos biológicos. Todas las infecciones, inaparente o aparente, es probable que aumenten biológicamente su variabilidad. Además, algunos animales con infecciones son zoonóticas, es decir, transmisibles al hombre. Por todas estas razones, los programas de vigilancia de la salud de los animales son importantes, añadiendo a la fiabilidad de los datos y reproducibilidad de la investigación y disminuir el riesgo para los investigadores y el personal que los cuida de contraer infecciones zoonóticas. (50)

Rehbinder (Coordinador). S. Alenius. J. Bures. M. de las Heras. C. Greko. P. S. Kroon & A. Gutzwiller. FELASA recommendations for the health monitoring of experimental units of calves, sheep and goats. FELASA, BCM Box 2989, London WC, N 3XX, UK © Laboratory Animals Ltd. Laboratory Animals (2000) 34, 329-350. B. (50)

NUEVOS PARADIGMAS EN LA INVESTIGACIÓN.

Como se resume recientemente por Festing (2000), las cuestiones relativas a la elección del modelo experimental más adecuado, para hacer frente a una hipótesis científica definida, y la forma en que resulta se puede extrapolar a partir de experimentos utilizando diferentes modelos animales, para contestar bio-preguntas médicas de investigación; algunas son complejas y no lineales hacia delante. En este contexto, Festing, cita la sugerencia por Van Der Gulden et al., (1993) que "No existen normas relativas a la elección de un modelo animal adecuado, ni hay reglas para la extrapolación de los resultados del modelo a otra especie animal u hombre. Es en este proceso, se plantea la dificultad de aceptar y para establecer criterios para la elección y la pertinencia de los modelos animales en particular es que este trabajo, que intenta abordar la cuestión de si las ovejas se puede considerar ser un modelo útil para la bio-investigación médica. También se revisaron las fortalezas y limitaciones de las ovejas como un animal relevante, como modelo para la investigación Biomédica. Se discute, por último, aunque no hay duda de que la oveja como modelo animal ha contribuido a una serie de importantes avances en la investigación biomédica durante los últimos 34 años, este resumen se centra en la cuestión de la si la oveja puede ser considerado como un animal útil modelo en la investigación biomédica más allá del siglo en lugar de proporcionar, sólo una reseña histórica de la contribución de las ovejas a los avances en las investigaciones. Al principio, también es importante resaltar que este trabajo es descrito desde la perspectiva de un científico de investigación biomédica, que ha estado utilizando las ovejas como un animal experimental, modelo para una serie de cuestiones relativas a la reproducción y el desarrollo de por lo menos dos décadas. (McMillen C., 2001.) (36).

Vale la pena señalar que la nueva norma sobre bienestar animal ya contempla a los ovinos como animales de experimentación.

PREPARACIÓN PARA LA CIRUGÍA.

Breve reseña del ingreso de ovinos al servicio bioterio y cirugía experimental del Instituto Nacional De Rehabilitación LGII

Al tener información que se nos facilita del protocolo se programa las áreas en donde se van alojar por lote o en grupo, además de ya tener almacenado el forraje, sea avena y alfalfa henificada o deshidratadas en pacas; el alimento concentrado peletizado; de sales minerales premezcladas y tener todos los documentos de guía sanitaria, y facturas del establecimiento o rancho de donde es su origen.

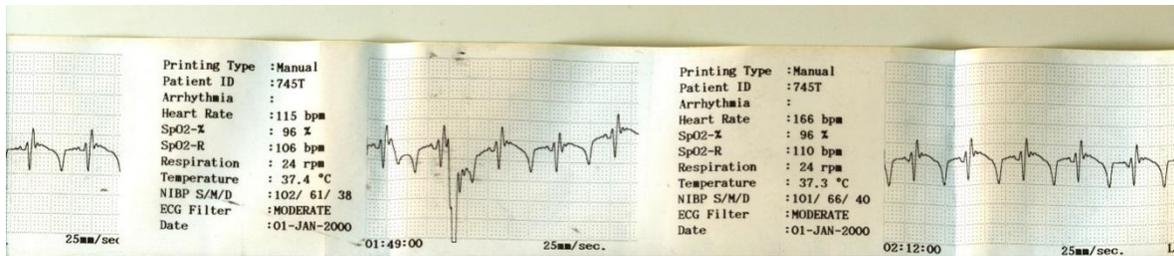
Dentro de la rutina para iniciar cirugías en las ovejas, primero se debe llenar una hoja que identifique al animal y al personal involucrado (hoja 1)

		
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACION DIRECCION DE INVESTIGACION SERVICIO DE BIOTERIO Y CIRUGIA EXPERIMENTAL HISTORIA CLINICA		
Nombre del proyecto:		
Nombre del investigador:		
Número del protocolo	Número de Habitación	Fecha de llegada:
Nombre del Laboratorio:	Extensión:	Tel. de emergencia:
Especie:	Raza o cepa:	No. Jaula:
		No de animal:
Edad :	Color	No. Lote:
Procedencia:	Sexo: M () H()	Peso:
		No. Lote
Inicio de cuarentena:	Tipo de identificación:	
Termino de cuarentena:	No. de animales por jaula.	
Aspecto General		
Conformación: Delgado() Obeso () Normal ()		
Actitud: Alerta () Deprimido () Agresivo () Normal ()		
Respiración: Aumentada () Disminuida () Normal () Abdominal () Torácica ()		
Color de las mucosas: Oral	Conjuntival:	Prepusial o vaginal
Estornudos: sí() No()	Moco: sí() No() color	Pelo:
Come Si () No ()		Hirsuto () Alopecia () Normal ()
Diarrea Si() No() Color:		Temperatura: A. : .
Movimientos ruminales / minuto (en rumiantes)		FR: _____ FC: _____
Tipo de Alimentación :		
Cantidad:		Horario:
Observaciones:		
Nombre del MVZ que elaboró		Firma:

F03-PR-SIB-03 Rev. 1



Carz. México, Nuchamalco No. 289, Col. Jardín de Guadalupe, C.P. 14399, Delegación Tlalpa, México, D.F.
Tel: (55) 5999 1800 - www.inr.gob.mx



Hoja 3. Gráfica de signos vitales.

A continuación, se pesan y en ese trayecto se ve la dinámica de cada uno, y se realiza su registro en un expediente llenando una historia clínica, a cual es parte del protocolo establecido en el reglamento del bioterio; continuando con la inspección de cada uno de los ovinos registrando los datos que se toman como los siguientes.

Pesaje; Dinámica, como camina. Edad, por dentición. Temperatura rectal, revisar que no tenga manchas de diarrea y a que sexo pertenecen, tanto el latido cardiaco, respiración, movimientos ruminales, mucosas, (Famacha), ojos por si presenta “pinkeye”, revisión oftálmica; que tenga arete numerado, que corresponda con el registro de la guía sanitaria. Todo esto y algunas anotaciones, que se noten de algún animal son escritas en las hojas que se tienen membretadas de historia clínica que se tiene en el bioterio. En el cual se anexa los documentos como: guía sanitaria, factura, hoja de ingreso del protocolo y carta de aceptación del protocolo de investigación en estos animales, como la carta del CICUAL, y responsable veterinario del bioterio.

Se aloja en un corral externo para su descanso y aclimatación del área, dándoles agua limpia y forraje picado de avena, 70% con alfalfa en 30%.

El bioterio cuenta con un corral o patio, y dos áreas de resguardo que es donde pasan la noche, y cuenta con corrales individuales donde se separan para mantener el ovino dietado y de recuperación, después de la cirugía, los espacios donde separan están configurado a las normas internacionales para mantener al ovino en resguardo como mínimo un metro cuadrado.

Son resguardados a las 17:30 horas y son sacados a las 5:30 am al patio o corral; los resguardos cuentan con bebederos automáticos y el corral con abrevadero grande de 50 litros de acero inoxidable, y los horarios de alimentación son, a las 6:00 am. Y 14: 00 horas. Una vez por semana se les da sal mineral en los

comederos aproximadamente un kilogramo, además de 250 gramos de concentrado al día.

Diariamente se realiza lavado de las áreas donde son alojado y en el corral externo también, en el cual son barridas las excretas, escobas de vara y de cerdas de plástico, y vertidas en un bote de metal que cuentan con bolsa negra para fácil manejo.

También se desparasitan y vacunan con bacterinas de 9 antígenos, se realizan exámenes coproparasitológicos cada 2 meses.

LA RUTINA EN EL QUIRÓFANO

En la preparación del ovino para cirugía experimental para el desarrollo de un protocolo o prueba piloto, se enlistan los pasos y su justificación, para el mejor manejo evitando riesgos para no comprometer la vida, recuperar y tener segura la supervivencia del modelo ovino, cabe señalar que todos los pasos los he realizado siendo no continuo, pero si frecuentemente.

Se deja al ovino sin alimento desde 24 horas antes solo agua.

Se le retira el agua mínimo 8 horas antes de la preparación pre quirúrgica.

Se pesa y se registra su peso en la hoja de anestesia y en los expedientes siendo dos uno para los operarios y veterinarios para control y registro estadísticos del bioterio, y el otro es para los investigadores.

Se sujeta para realizar la trasquila en las zonas donde se inyecta tranquilizante endovenoso y canalización, siendo el área de la vena yugular y vena cefálica para canalizar y tener vía de acceso para suministro de medicamentos, analgésicos y anestésicos hasta que se tenga entubado para la anestesia inalada.

Se le aplica una dosis adecuada de tranquilizante, **acepromacina**, adecuada al peso por vena yugular; se realiza este procedimiento por acotamiento

de tiempos y facilitar en tiempo, para ingreso al quirófano y su recuperación post-quirúrgica y su supervivencia.

La sujeción la realizamos mínimo dos personas y si el aborrego pesa pasado los 60 kilogramos serán tres para no tener una mala canalización porque aun teniendo tranquilización se mueve y siente, así que tenemos que tener habilidad para realizarlo eficientemente.

Se canaliza con catéter o “punso-cat” de color azul o verde, previamente se pasa la torunda humedecida en alcohol mínimo al 70% en las vena cefálica, pudiendo ser también safena, y se fija con cinta adhesiva con el adhesivo de buena adherencia ya que el ovino presenta abundante grasa que despega la cinta y se torna dificultoso la fijación y suele ser que se llegue a zafar y no tenga una excelente fijación y es considerado como error en la manipulación por parte del personal que realiza esa tarea; así que el personal que desarrolle la habilidad se les califica como una nota buena. Una de las últimas técnicas es la veno-disecion para fijación de catéter como último recurso, no muy deseado.

Se le da una dosis de anestésico como propofol, para facilitar su trasportación al quirófano, además de la trasquila de las zonas a intervenir como abdomen, tráquea, cadera, rodilla, tórax para la fijación de electrodos del monitor, entre otros como parche de gel para el uso del electro-cauterio.

Todos los procedimientos anteriores, son realizados en el área de resguardo y con contactos eléctricos para tener la facilidad de utilizar trasquiladora eléctrica y rasuradora con cuchilla del número 40, cabe mencionar que a veces se satura de grasa y se recomienda tener limpia mínimo dos. En seguida es llevado al quirófano donde ya se encuentra montado con todo lo necesario y equipo especial, que en otro apartado se describirán los equipos e insumos que se utilizan el quirófanodel bioterio y servicio de cirugía experimental.

Ya en el quirófano, se dispone a montar el ovino en la mesa de cirugía para entubar y colocar la venoclisis, con solución salina fisiológica; el entubamiento se realiza con laringoscopios y sonda endotraqueal de los números 6, 7, u 8, según sea lo requerido.

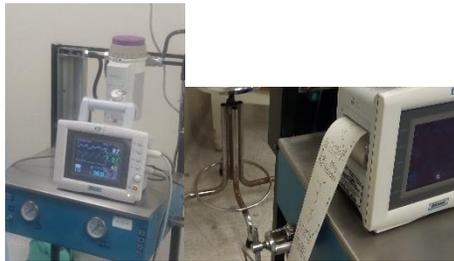
El ovino es colocado de cubito ventral con el cuello extendido para la fácil entrada del laringoscopio y con una paleta larga adherida a la base del mismo laringoscopio, que pueda hacer una presión y permita ver la laringe y las cuerdas bucales en la cual es la guía para colocar la sonda.

Este procedimiento resulta algo complicado si no se tiene experiencia en la manipulación del laringoscopio, o que el ovino sea pequeño y se dificulta, porque

el manipulador de la sonda se tapa su visión al tratar de colocarla e introducir la sonda en la tráquea y es común colocarla en el esófago; se coloca al ovino de cubito ventral y luego decúbito dorsal para realizar el “embrocamiento,” que es el lavado con solución jabonosa para cirugía y la desinfección con solución de yodo como se cita en los procedimientos quirúrgicos.

Se ponen la sonda para el anestésico inhalado (isoflurano), por el anestesista y se ponen los electrodos del monitor para latidos cardiaco, saturación de oxígeno, baumanómetro para medir presión alta y baja, respiración, y temperatura vía rectal. El monitor cuenta con sistema de impresión para el registro de las variables.

Puedo decir que esta es una de la gran parte del trabajo, en mi rutina laboral que hago, pero añado que esto se hace en equipo desde manipulación manejo y cuidados hasta el armado y preparación de los equipos utilizados en el quirófano, como su limpieza y desinfección de las áreas blancas del quirófano, esterilización de instrumental y ropa y demás insumos que son utilizados para la realización de los trabajos de investigación.



Aparato de anestecia inalada de isoflurano.

REGISTRO EN EXPEDIENTES

El RE O HC constituye el elemento clave para el ejercicio profesional del médico, tanto desde el punto de vista asistencial, pues actúa de recordatorio para el manejo clínico del animal tanto como desde el investigador y docente, permitiendo el análisis retrospectivo del quehacer Médico Veterinario. Se puede definir como un documento donde se recogen la información procedente de la práctica clínica o relativa a un enfermo y donde se resumen todos los procesos a que ha sido sometido. (NOM-004-SSA3-2012,) (43)

En primer lugar dejó de ser un documento individual “relatado individualmente por un médico”, para convertirse en un instrumento que refleja la actividad del equipo asistencial en el bioterio,

La medicina Veterinaria incorporó además información médico-administrativa

Actualmente desde el punto de vista de la estructuración de la información, existen 2 modelos de HC:

-El modelo tradicional:

A partir de la recopilación inicial se establece una impresión diagnóstica y una pauta de actuación sobre el “paciente” o el modelo animal documentándose todos los acontecimientos y todos los resultados obtenidos. El que este modelo de HC se haya mantenido a lo largo de 200 años se debe básicamente a que su elaboración es sencilla y el clínico refleja sus observaciones según el esquema aprendido en su formación, anotando los hechos tal y como se suceden según una secuencia cronológica.. (NOM-004-SSA3-2012,) (43)

-El estructurado por problemas

Su estructura formal es de Recoger la información sobre el paciente de los siguientes bloques:

A.- Anamnesis y exploración clínica

B.- Enfermedad actual

C.- Evolución Clínica

D.- Pruebas complementarias

E.- Procedimientos diagnósticos y terapéuticos

F.- Juicio diagnóstico

(NORMA OFICIAL MEXICANA-004-SSA3-2012, del expediente clínico)(43)

En el caso de un bioterio o animalario se hacen las anotaciones referentes a la especie en cuestión en este caso el ovino.

Eutanasia

Establecimiento de Puntos Finales

La falta de un punto final humanitario bien definido, a menudo es un aspecto clave en la revisión de protocolo y un de las principales causas de objeción al mismo. Cuando se presupone la muerte de los animales, el comité debe considerar importante el curso del tiempo y severidad del proceso, supervisando el entrenamiento de los encargados de los animales así como el cuidado y tratamiento de los mismos y la prevención de complicaciones inesperadas. Si la frecuencia esperada, severidad y signos de morbilidad son desconocidas, debe intentarse un estudio piloto bajo la estrecha vigilancia médica veterinaria para responder a estas dudas. La muerte y el estado moribundo, como puntos finales, deben ser evitados. Se aplica eutanasia a los animales en la parte más temprana del punto final, de acuerdo con los objetivos científicos de la propuesta, y en concordancia con los criterios aceptables para la determinación de este punto. (39)

Los procedimientos que involucran dolor severo constante y/o inevitable o privación de alimento y/o agua y el aislamiento durante períodos prolongados de animales conscientes, por ejemplo, experimentos en la categoría E, son considerados altamente cuestionables o inaceptables sin importar la trascendencia anticipada de los resultados. (39)

Gravemente herido de ovejas y cabras y animales que son enfermos y tienen una muy pobre posibilidad de supervivencia debe ser matado. La AVMA aconseja Directrices sobre la eutanasia (AVMA, 2007) identifican varios métodos apropiados para ovejas y cabras, incluyendo sobredosis de anestésico o inyectables de una solución de la eutanasia, el perno cautivo penetrante y desangrado, o de bala letal cuidado de la cabeza. Otros métodos recomendados por la AVMA pueden ser utilizado si el equipo y la experiencia adecuada están disponibles. En todos los casos, una persona formada y cualificada debe matar al los procedimientos de manipulación de los animales, y el bienestar animal adecuada y se deben seguir

en todo el proceso. Federales, estatales, y las leyes y ordenanzas sobre car- locales disposición cass debe revisarse para orientación y guiente guido. Los cadáveres de animales que fueron cazados con barbitúricos pueden contener residuos potencialmente nocivos, y esos cadáveres deben ser eliminados de una manera que impide la vida silvestre de consumirlos. (19) (29) (35)

Eutanasia en rumiantes.(Terneros. Ganado. Cabras y Ovejas)

Métodos Físicos

La Electrocuación o Aturdimiento Eléctrico

Estos métodos parecen ser más aceptables con las especies bovinas y equinas. Los electrodos deben colocarse para que pase la corriente por el cerebro. Las t&:nicas en las que la corriente pasa por el corazón en vez de por el cerebro no se consideran humanitarias. Estos métodos se utilizan más bien en mataderos en los que se sacrifican un gran número de animales. (7)

Disparo con "martillo neumático" (captive bolt)

Los "captive bolt", bien penetrantes o no-penetrantes, se disparan por medio de pólvora o aire comprimido. Este método es aceptable en un matadero, pero puede que el personal de laboratorio lo considere desagradable. El animal debe estar correctamente sujeto y el canón de la pistola debe situarse en ángulo recto al cráneo y enfocado hacia el centro del cerebro. No debe dispararse la pistola si el animal mueve la cabeza. (7)

Exanguinación.

La exanguinación se utiliza de manera secundaria al disparo con "martillo neumático", la contusión craneal o el aturdimiento electico. No se recomienda como medio primario para realizar la eutanasia. (7)

Métodos Parenterales

Vía intravenosa: Barbitúricos

El pentobarbital sódico (100 mg/Kg) inyectado vía yugular es rápido y bien tolerado por los terneros, ovejas y cabras que se utilicen en la investigación quirúrgica. El paro cardiorrespiratorio también puede inducirse con efectividad con la administración endovenosa de una solución de hidrato de cloral (30 g), sulfato de magnesio(15 g), Y pentobarbital sódico (6.6 g) en 1000 ml de agua. Esto puede combinarse con la exanguinación, toracotomía y otros medios. (7)

Métodos por Inhalación

Máscara o Cono de Eutanasia: Halotano y Metoxiflurano

Se puede practicar la eutanasia en las ovejas (corderos) o cabras (cabritos) pequeños, situándoles la cabeza en un cono o máscara. Este método no se recomienda para los animales más grandes (7)

Corolario

Papel que Corresponde a la Profesión Veterinaria

De unos años a esta parte el veterinario ha adquirido un protagonismo esencial en este campo, no solo en la organización, puesta en marcha, control de los bioterios o animalarios de los servicios de experimentación animal (que por ley le corresponden) y que están en los grandes hospitales o centros de investigación, sino también en desarrollo de las propias investigaciones. Puesto que nadie mejor que el veterinario conoce la fisiología animal aplicable, por ejemplo, a la anestesia de los mismos, o su anatomía para la mejor valoración de las vías de abordaje a determinados órganos, o los lechos receptores idóneos para la implantación de los mismos, así como los elementos más adecuados a utilizar para la realización de las anastomosis vasculares o nerviosas. El veterinario domina o conoce la patología para controlar y llevar a buen puerto las experiencias que por su esencia misma, debe conllevar posoperatorio tormentoso. Hoy día, al plantearse cualquier línea de investigación, hay que recurrir a la formación de equipos multidisciplinarios. El trasplante de órganos es fuente de múltiples líneas de investigación que al utilizar modelos experimentales de base quirúrgica, se ven necesitadas de la colaboración directa del veterinario como eslabón fundamental de la cadena de investigadores, pues es indudable que los protagonistas de la investigación quirúrgica experimental son los animales, lo que supone que, en tanto no dispongamos de otros recursos y los resultados sigan una impagable ayuda a la humanidad, estará justificada, en cierta medida, su utilización, siempre y cuando la metodología se adapte a las más elementales normas de ética, en el manejo y el trato de los animales y a las normas científicas, en el desarrollo de los protocolos de investigación. (39)

Avances en Medicina Veterinaria

Se calcula que sólo alrededor del 5% de los animales que se utilizan en investigación biomédica son para estudios de medicina veterinaria; sin embargo estos estudios han llevado al desarrollo de tratamientos y/o vacunas contra

enfermedades como rabia, ántrax, muermo, inmunodeficiencia felina, tuberculosis, fiebre de Texas, fiebre porcina clásica y parasitosis, entre otras.(39)

MVZ M. en C. Jaime Alonso Navarro Hernández, MVZ Roberto Aarón Ramírez Ojeda

MVZ Carlos Villagrán Vélez. Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales. Ed. Samsara Editorial, 2012. mpreso en México / Printed in México. (39)

Extrapolación de Animales a Humanos

Cuando los resultados experimentales se generan en un modelo animal, estos deben ser validados con respecto a su aplicabilidad en las especies objetivo, de las que la principal es el humano. El término “extrapolación” es utilizado a menudo para describir que los datos obtenidos en los animales son también de aplicación en humanos. Sin embargo, generalmente la extrapolación no se realiza en el sentido matemático, en el cual los datos se ajustan a cierta función que se puede describir gráficamente; la gráfica contiene más información de la que interesa describir con una ventana de observación. (34, 35,39)

Tal vez lo más cercano a una extrapolación matemática en estudios con animales, sea establecer datos de toxicidad en animales y utilizarlos para determinar niveles seguros de exposición para humanos. Sin embargo, la mayoría de los estudios de la estructura y la función en animales nunca se extrapolan para describir aspectos correspondientes en humanos. (34)

A pesar de que el valor predictivo de los estudios con animales puede parecer alto, estos no deben ser tomados como absolutos, sobre todo en algunas especies ya que la dependencia no crítica de los resultados de una mala prueba pueden ser peligrosos o engañosos e incluso, en algunos casos, dañar la salud humana. Lo que es nocivo y no efectivo en especies no humanas puede ser no nocivo y efectivo en humanos y viceversa; por ejemplo la penicilina es fatal para los cobayos pero generalmente se tolera bien en humanos exceptuando los casos de

alergias; la aspirina es teratogénica en gatos, perros y cobayos, ratas, ratones y monos, sin embargo, es bien aceptada por los humanos, siempre y cuando no se administre a mujeres embarazadas. (34,35) La talidomida, droga desarrollada para evitar las náuseas, incapacitó a miles de niños en el mundo por su efecto teratogénico, sin embargo en las pruebas con ratas no mostró este efecto indeseable. Una cercana relación filogenética o similitud anatómica, no es garantía de que los mecanismos bioquímicos y moleculares, y por lo tanto la respuesta fisiológica, sea semejante. (40) No es posible plantear reglas generales para extrapolar resultados de una especie a otra. Esto debe hacerse de forma individual para cada experimento y posteriormente verificarse en otras especies. Un extenso y práctico punto de vista en el problema de la antropomorfización predictiva, especialmente en el campo de la investigación toxicológica, es el “Principio de la Extrapolación Animal de Calabrese”. La extrapolación racional de resultados a otras especies se basa en la mayor homologación y similitud evolutiva entre estructuras y procesos fisiológicos de las diferentes especies animales y entre los animales y el humano. (39)

-MVZ M. en C. Jaime Alonso Navarro Hernández, MVZ Roberto Aarón Ramírez Ojeda

MVZ Carlos Villagrán Vélez. Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales. Ed. Samsara Editorial, 2012. Impreso en México / Printed in Mexico (39)

Glosario

Ad-libitum: A libre acceso.

Agentes biológicos: Cualquiera de los microorganismos de ciertas clasificaciones o cualquier sustancia tóxica derivada de organismos vivos que pueden producir muerte o enfermedad en el hombre, animales o plantas en desarrollo.

Agentes físicos: Objetos o estructuras inanimadas o estados de la materia capaces de producir cambios fisiológicos.

Agentes químicos: Sustancias que producen efectos letales, lesivos o irritantes.

Alergias: Extrema reactividad de los organismos vivos a exposiciones subsecuentes de ciertos antígenos derivados de diversas sustancias químicas o desechos animales.

Analgésico: Fármaco que disminuye o suprime el dolor.

Anestésico: Fármaco que causa la parcial o total ausencia de sensibilidad.

Animales axénicos: Aquellos que son libres de microorganismos demostrables.

Animal de laboratorio: Animal usado en la investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y enseñanza.

Animales gnotobióticos: Aquellos que están completamente libres de agentes patógenos o que pueden hospedar uno o más microorganismos claramente identificados.

Animal neonato: Todo animal recién nacido hasta que se vale por sí mismo.

Animales SPF: Aquellos que están libres de patógenos específicos para la especie.

Asepsia: Métodos o procedimientos que impiden o evitan el acceso de gérmenes patógenos o infecciosos.

Bienestar: Estadio de satisfacción de las condiciones biológicas, ambientales y psicológicas que requiere un animal para desarrollarse, vivir sano y expresar su conducta normal como animal de laboratorio.

Bioseguridad: Conjunto de métodos, técnicas, aparatos e instalaciones destinados a salvaguardar la salud y la vida de las personas, los animales de laboratorio y proteger el medio ambiente.

Bioterio: Conjunto de instalaciones, muebles e inmuebles destinados al alojamiento y manutención de animales de laboratorio durante una o varias de las fases de su ciclo vital; esto es, nacimiento, desarrollo, reproducción y muerte.

Capacitación: Acción y efecto de enseñar o habilitar a las personas para el cuidado y la utilización correcta de los animales de laboratorio.

Carnívoro: Aquellos mamíferos euterios, terrestres, tetrápodos que pueden alimentarse de carne, carroña, y aún ser omnívoros.

Comité: Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio.

CONASAG: Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria.

Confinamiento o encierro primario: Estructura física que limita los movimientos de desplazamiento de los animales de laboratorio y define su hábitat inmediato bajo condiciones normales de bioterio.

Cuarentena: Periodo de aislamiento al que se someten los animales de laboratorio, en un lugar específico, con el fin de conocer su estado de salud.

Desinfección: Procedimiento destinado a destruir los agentes patógenos para los animales y el ser humano, que se aplica a los locales, vehículos, así como a los implementos que sean utilizados en los establecimientos. Se debe efectuar posterior a la limpieza.

Dirección: Dirección General de Salud Animal.

Eutanasia: Procedimiento humanitario empleado para terminar con la vida de los animales de laboratorio, sin producirles dolor, angustia o sufrimiento.

Estrés: Reacción de los organismos vivos a diversos estímulos adversos, internos o externos, que tienden a alterar el equilibrio psicológico y fisiológico de un animal, a través de su exposición a condiciones extremas.

Médico Veterinario certificado: Profesional con reconocimiento válido y vigente, otorgado por un consejo de certificación nacional a través de la evaluación objetiva de sus conocimientos, habilidades, destrezas, valores y actitudes en el área específica de la ciencia de los animales de laboratorio. Dicho consejo debe estar acreditado por la autoridad que corresponda.

Médico Veterinario responsable: Profesional aprobado por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación como coadyuvante en las funciones de asistencia técnica y capacitación zoonosanitaria de los productores.

Médico Veterinario Zootecnista: Profesional con cédula expedida por la Dirección General de Profesiones de la Secretaría de Educación Pública.

Salud ocupacional: Estado de salud, relacionada a la ocupación laboral del individuo.

Sedante: Agente depresor del sistema nervioso central capaz de abolir estados de irritabilidad o excitación en un animal.

Secretaría: La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

Tranquilizante: Fármaco capaz de abolir la ansiedad e inducir sedación.

Zoonosis: Denominación genérica de las enfermedades infecciosas de los animales que pueden ser transmitidas al hombre.

NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. (44)

BIBLIOGRAFÍA

1. Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Marino, R., Centoducati, P., Sevi, A., 2005. effect of different ventilation regimens on ewes' milk and Canestrato Pugliese cheese quality in summer. *J. Dairy Res.* 72: 447-455.
2. Ames, B.N. 1971. The detection of chemical mutagens with enteric bacteria. In: *Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection* vol. 1 (ed. A. Hollaender), pp. 267-282. Plenum, New York.
3. Ames, D. R., and L. W. Insley. 1975. Wind-chill effect for cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 40:161.
4. Annison, E.F. y Lewis, M.A. (1982) *Metabolismo en el rumen*. Ed. UTEHA. México. D.F.
5. Armentano, L.E., J.W. Young. 1983. Production and metabolism of volatile fatty acids, glucose and CO₂ in steers and the effects of monensin on volatile fatty acid kinetics, *J. Nutr.* 113: 1265-1277. [
6. Armitage; P. y Berry; G. (1992). *Estadística para la investigación biomédica*, /Barcelona, España :Doyma. Available from: URL: [http:](http://)
7. Bolant, B., Hernández MA. Bermúdez C.D., Lapeña, L.D., Forner G. (1990). *La Eutanasia en los Animales de Laboratorio* Centro de Investigación. Hospital General Universitario de Valencia, *Research In Surgery*. Suplemento 5.
8. Caeiro, J.P., da Costa J.R., Capela F.S., Relvas, C.A. Cabrita, S y Simões, J.A.,(2008). The sheep as an Animal Model in Orthopaedic Research. *Experimental Pathology and Health Sciences.* 2 (1): 29-3.
9. Calabrese E.J. *Principles of Animal Extrapolation*. 1a Ed. New York: Wiley,
10. Caroprese, M. 2008. Sheep housing and welfare. *Small Rumin. Res.* 76:21–25.
11. Clark. ed. *Environmental impact of housing for animal production*. Butterworths, London, U.K.
12. Cuéllar, O.J.A., Garcia, L.E., de la Cruz, H.A y Aguilar, N.M. (2011). *Manual Práctico para la Cría Ovina*. Primera edición 2011 Impreso en México.
13. Davidson, R.M.,(2000). Genetic improvement and importance to sheep and beef. *proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 60: 184-188

14. de las Heras M.G. (2010). La oveja como modelo experimental de animal grande en la investigación de patologías respiratorias. Revista .archivos de bronco neumología. 46810): 499-501.
15. Delgado, R.L.C., Gutiérrez, M.P., (2005). Manual práctico de manejo de una explotación de ovino de carne. Ed. Servicio de Formación Agraria e Iniciativas, y Junta de Castilla y León, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola. España.
16. Ernest D. Olfert, DMV; Brenda M. Cross, DMV; y A. Ann McWilliam. (1998). NORMAS PARA LA CIRUGÍA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. En MANUAL SOBRE EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN(299). canada: Consejo Canadiense de Protección de los Animales .
17. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de experimentación. Rumiantes. . Rumiantes. (Bovinos, Ovinos y Caprinos). <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/cicuae.html>
18. Espinosa, J. M., (2012). Análisis de un Implante para Cartílago de Células Madre Mesénquimas Modificadas Genéticamente con Factores Condrogénicos en Ovisaries, Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Medicina U, Diciembre.
19. Faerber, C. W. 2004. Small Ruminant Production Medicine and Management: Sheep and Goats. 3rd ed. Animal Health Publications,
20. Federation of Animal Science Societies., (2010) Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. Third edition.
21. Giraldo A. J. (2008). "Metodología y Técnica de la Investigación Bibliográfica Ed. Librería del profesional. Bogotá Colombia. Guide for the care and use of laboratory animals. Institute of laboratory animal resources. National research council. DHHW. 2009.
22. Guillé, P.B., Soriano, R.R.E., (2007). Guía de los anestésicos más utilizados en animales de laboratorio, primera edición, editado por los talleres del instituto nacional de ciencias médicas y nutrición salvador zubirán. México D.F.
23. Guerrero Rodríguez Alberto, (2015), Proceso del grano y de la fibra, efectos sobre el metabolismo ruminal. Mexico, Trillas

24. Guss, S. B. 1977. Management and Diseases of Dairy Goats. Dairy Goat Publishing Corporation, Lake Mills.
25. Harmon, J. D., M. S. Honeyman, and B. Koenig. 2004. Hoop Barns for Horses, Sheep, Ratites, and Multiple Utilization. Agric. Eng. Digest. AED 52. MWPS, Iowa State Univ., Ames.
26. Hernández; S., (2006). . Biomedicina,. 2 (3)- 252-256. ISSN: 1510-9747)
27. Hervé, M.A., Escobar, E.V., y Fernández R.J., (2007). Manual Producción ovina. Fundación para la Innovación agraria universidad austral de Chile. Santiago, Chile.
28. http://www.ebd.csic.es/documents/240051/0/Sample_size_and_power_analysis.pdf/bbe6cc3f-31a8-405f-9e2b-65b5edf3a881
29. McGlone, J., Ford, S., Mitloehner, F., Grandin, F. y Ruegg, P. Stull, C. y Lewis, G. (2010). Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. Federation of Animal Science Societies Third edition January 2010
30. Kilgour, R. and Dalton, C. 1984. Livestock Behaviour: a Practical Guide. Granada. London.
31. Marino, R. M, Santillo, A., (2006). Effects of dietary
32. Manual de ovinos 3º año ciclo básico agrario versión preliminar, dirección provincial de educación técnico profesional, dirección de educación agraria Sitio Argentino de Producción Animal. <http://www.produccion-animal.com.ar/> (2018)
33. Martini. L, Fini, M., Gianluca, G. y Giardino. R., (2001) Ovejas Modelo de Investigación Ortopédica: Una revisión de la literatura. Comparative Medicine, Volume 51, Number 4.
34. McGlone J. (2001). Farm animal welfare in the context of other society issues:
35. McGlone. J., Mitloehner. F., Grandin. T., Ruegg. P., Stull. C. y Lewis. G., (2010). Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. Federation of Animal Science Societies. Third edition.

36. McMillen C., (2001). ANZCCART News June 2001 Vol. 14 No 2.
37. Mead, R. (1988). El diseño de experimentos: Principios estadísticos para aplicaciones prácticas. por Cambridge University Press en Cambridge Inglaterra
38. Mitlohner, F. M., M. L. Galyean, and J. J. McGlone. 2002. Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. J. Anim. Sci. 80:2043–2050.
39. Navarro, H. Villagrán, C.V. (2012). Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales. Ed. Samsara Editorial, 2012. mpreso en México / Printed in Mexico
40. National Research Council., (2002)- Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Academia Nacional de Medicina.
41. Navarro, J.E., Gómez, m.C., García, G.J., Leyton G.B. y Barros W.M. (2005). Programa Cordero del Secano Costero. Ed. Fundación Chile, Santiago.
42. Neufert; E., Neufert; C., y Neufert, P., (2007). Arte de proyectar en arquitectura : fundamentos, normas y prescripciones sobre recintos, edificios, exigencias de programa y relaciones espaciales, dimensiones de edificios, locales, estancias, instalaciones y utensilios con el ser humano como medida y objetivo ; manual para arquitectos, ingenieros, arquitectos técnicos, constructores, profesionales y estudiantes; Español (spa) : 15. ed. Editorial:Barcelona [u.a.] : Gili.
43. NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico
44. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio
45. Octavio Villanueva Sánchez, Rafael Hernández; Analisis de costos y su estimación para recursos en bioterio; Instituto Nacional de Nutricion y Ciencias Médicas Salvador Zubiran México 2003.
46. Olfert, D.E., Cross, B.M., y William, A., (1998) Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación capítulo IX–normas para la cirugía en animales de experimentación ccpa, manual vol. 1 (2nda edición) Ottawa, Ontario. Canadá.of Arizona. [Homepage on the internet] 2007 [citado el 31 julio 2008].
47. Ordoñez, M.R. (2012). Cirugía de campo de los animales de abasto.” Mexico Trillas, .pagina 33 y 34.198 p.

48. Pennsylvania (1994). 4H Livestock Judging manual. University of Pennsylvania.
protein level on ewe milk yield and nitrogen utilization, and on air quality under different ventilation rates. *J. Dairy Res.* 73:197-206.
49. Rand SM. Selection of Animal Models. Research Animal Methods. University
Raton, Fl. USA: CRC Press; 1990(1), 1995 (2).
50. Reh binder, S. Alenius. J. Bures. de las Heras, M., Greko, M., Kroon, P.S. y. Gutzwiller, A., (2000). FELASArecommendations for the health monitoring of experimental units of calves, sheep and goats.FELASA, BCM Box 2989, London WC, N 3XX, UK © Laboratory Animals Ltd. *LaboratoryAnimals.* 34, 329-350.
51. Reyes, G.M.E., Peralta, L.M., Sánchez, P.H., y Oliva, V.A., (2009). Manejo integral de la Producción ovina, UNACH y fundación Produce Chiapas A.C. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas México.
52. Rojo, A.A., (2014). Calculo del tamaño de la muestra en procedimientos de experimentación con animales. Valoración de las incidencias. *Animales de Laboratorio*, número 62.
53. Rollin BE, KeselML.(2007)The Experimental Animal in Biomedical Research. Boca
54. Sevi, A., Albenzio, M., Annicchiarico, G., Caroprese, M.,Marino, R., Taibi, L., 2002. Effects of ventilation regimen on the welfare and performance of lactating ewes in summer. *J. Anim. Sci.* 80:2349-2361.
55. Sevi, A., Albenzio, M., Muscio, A., Casamassima, D., Centoducati, P., (2003^a). Effects of litter management on airborne particulate in sheep houses and on the yield and quality of ewe milk. *Livest. Prod. Sci.* 81:1-9.,
56. Steven F., Temple G., Ruegg, P., Stull, C. y Lewis, G. (2010) Guide for the Care and Useof Agricultural Animals in Research and Teaching. Federation of Animal Science Societies Third edition January.toward sustainable systems. *Livest Prod Sci* 72:75–81.
57. Webster, A. J. F. (1983). Environmental stress and the physiology, performance and health of ruminants. *J AnimSci*, 57, 1584-1593.
58. Yami, A. y Merkel,R.C., (2008). Sheep and Goat Production Handbook for Ethiopia, Publisher: Brana Publishing house.

59. Young, B. A. and Degen, A. A. 1981. Thermal influences on ruminants. Pases 167-180 inl. A.
60. Young, R. J. 2003. Environmental Enrichment for Captive Animals. UFAW Animal Welfare Series, Blackwell Publishers, UK.
61. Zewde, S y Lidetu; d.(2008), Sheep and Goat Flock, Health Ethiopia Sheep and Goat Productivity Improvement Program Sheep and GoatFlock Health

Páginas y textos consultados en internet

62. <https://uac.arizona.edu/search/modelo/animal%20de%20laboratorio>. (2018)
63. www.engormix.com/MA-ovinos/foros/cuadro-vacunacion-ovinos-t5597/p0.htm (1983.)
64. http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0004-05922011000400044&script=sci_arttext
65. <http://www.produccion-animal.com.ar/>
66. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
67. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/>
68. <http://www.engormix.com/>
69. <http://www.bioterios.com/2013/>
70. <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/40/1/161/4668054?redirectedFrom=fulltext>
71. <http://www.esgpi.org/HandBook/Chapter9.html>

Anexos

Parámetros sanguíneos

Volumen de la sangre	mL/kg	40/30
hemoglobina	g/100 mL	11-13/8-12
Hematocrito	Vol.%	32/34
Diámetro de los hematíes	µm	4.8/4
Eritrocitos	(x10 ⁶ /mm ³)	10-13/80-120
Leucocitos	(x100/mm ³)	25-30/35-40
Neutrofilos	(%)	2-5
Eosinofilos	(%)	≤1
Basófilos	(%)	60-65/50-55
Linfocitos	(%)	5
Monocitos	(%)	
Plaquetas	(miles/mL)	
<i>Parámetros bioquímicos</i>		
Glucosa	(mg/100ml)	30-50/45-60
Colesterol total		100-150/55-200
Proteínas totales	(g/100mL)	5.74-7.27
Proteinas Serica totales	(g/100mL)	5.38/6.67
Albumina	(g/100mL)	3.07/3.96
Globulina	(g/100mL)	2.31-2.71
Cloruros	(mEq/L de suero)	95-110/100-125

CLASIFICACIÓN DE ALDRETE (Adaptado al modelo de enseñanza)	Sala de operación al salir	Sala de recuperación			
		10'	20'	60'	120'
Actividad muscular					
Movimientos voluntarios (4 ext.)	2				
Movimientos voluntarios (2 ext.)	1				
Completamente inmóvil	0				
Respiración					
Respiración torácica	2				
Respiración abdominal	1				
Apnea	0				
Circulación					
F.C. \pm 20% de la cifra basal	2				
F.C. \pm 35% de la cifra basal	1				
F.C. \pm 50% de la cifra basal	0				
Estado de conciencia					
Completamente despierto	2				
Responde a estímulos	1				
No responde a estímulos	0				
Coloración					
Mucosas rosadas	2				
Mucosas pálidas	1				
Cianosis	0				
Total					
(-) de 6: Permanecerá en sala de recuperación. 6 a 7: Pasa a recuperación (vigilancia intensiva = signos vitales cada 10'. 8 a 9: Pasa a recuperación (vigilancia normal = signos vitales cada 30'. 10: Alta de recuperación anestésica.					
Descripción de técnica operatoria: _____ _____ _____ _____ _____					
Equipo quirúrgico:					
Cirujano: _____		1er. Ayudante: _____			
2do. Ayudante: _____		Instrumentista: _____			
Anestesiólogo: _____		Circulante: _____			

TRANSPLANTATION OF TISSUE ENGINEERED MENISCUS IN SHEEP

*Ibarra C; *Cao Y; *Willoughby J; *Rivas R; *Isogai N; *Rodriguez A; *Hosseinzadeh T; *Kim TH; *SooHoo C; *Shapiro F; *Vacanti CA, *Warren RF, *Vacanti JP
 *HOSPITAL FOR SPECIAL SURGERY, New York, NY; †Department of Surgery & Department of Orthopaedics, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA; ‡University of Massachusetts Medical Center, Worcester, MA; †Advanced Tissue Sciences, La Jolla, CA.

INTRODUCTION

Meniscal allografts have been used to replace torn or absent menisci with varying rates of success (1). Collagen scaffolds, shaped like a meniscus, have been used experimentally to replace menisci in laboratory animals, and are currently being evaluated in human clinical trials (2, 3). Meniscus-like tissue has been engineered successfully by seeding bovine or human fibrochondrocytes onto synthetic, biodegradable polymer scaffolds and implanting them subcutaneously in nude mice (4, 5). The goal of this project was to evaluate the feasibility of using a tissue engineered meniscus to replace a meniscus in adult sheep.

SPECIFIC AIMS

1. Evaluate the feasibility of engineering meniscus tissue in an immune-competent animal model using autologous fibrochondrocytes and synthetic, biodegradable polymers.
2. Evaluate the feasibility to vascularize the construct prior to implantation into the joint.

METHODS

The medial and lateral menisci were surgically removed from the left knee of 8 adult Doree sheep through open arthroscopy. Fibrochondrocytes were isolated by collagenase digestion and expanded in vitro using standard culture techniques (mean $8.12 \pm 10\%$ FBS + antibiotic supplemented). Fibrochondrocytes (5×10^7) were seeded onto the PGLA/PLA non-woven fiber scaffolds and maintained in culture for 5-7 days to allow the cells to attach to the polymer fibers. Scaffold preparation and implantation are described graphically in Figures 1-4 and 5. These cell-polymer constructs were implanted subcutaneously to the medial aspect of the right knee of three sheep, over the medial tibial artery to create a vascular pedicle. Two cell-polymer constructs were implanted subcutaneously to the medial aspect of the proximal right thigh of the two remaining sheep. After 4 weeks the constructs implanted over the vessel developed a vascular pedicle. These were dissected free and used as vascularized grafts to replace the right medial meniscus. Constructs implanted in the proximal thigh were removed and used as free grafts to replace the right medial meniscus. Postoperatively, the knee was immobilized with an external fixator for two weeks. The fixator was removed and the animals allowed free ambulation for an additional 4 weeks. The sheep were then sacrificed and the knees removed. Intra articular ink was injected in the femoral artery of one animal immediately after euthanasia for subsequent Spatzholz evaluation of the vascularity of the meniscus. The remaining knees were evaluated by gross and histologic examination.

Figure 1. Poly (l-lactide acid) (PLLA) 1.5% solution, polyglycolic acid (PGA) non-woven fiber mesh, and a negative mold of the right meniscus of an adult sheep.

Figure 2. PGLA/PLA polymer scaffold (left), shaped similar to the right medial meniscus of an adult sheep (right).

Figure 3. Phase contrast micrograph (20X) of PGLA-coated PLA fibers showing fibrochondrocyte attachment and production of extracellular matrix.

Figure 4. The polymer scaffold was implanted into the sheep knee by first removing the medial meniscus of the animal and posteriorly to the anterior horn, and then suturing the polymer scaffold to the remaining horns of the meniscus (right).

Figure 5. Schematic representation of the ligament procedure for intra-articular transplantation. The cell-polymer scaffold was sutured similar to that shown in Figure 4 & 5.

RESULTS

Figure 6. Meniscal scaffold in situ. After 4 weeks, the meniscus is used to replace the medial meniscus that was removed.

Figure 7. Vascularized medial meniscus. A vascular pedicle was attached to the proximal right thigh 4 weeks after subcutaneous implantation. The construct has maintained the shape and size of the original scaffold.

Figure 8. Non-vascularized meniscus. At harvest 4 weeks after subcutaneous implantation, the original shape and size of the meniscus left have been preserved and is similar to the control medial meniscus (right).

Figure 9. Gross morphology of meniscus harvested with and without vascularized meniscus.

Figure 10. Arthroscopic view of an 8-week post-implantation.

Figure 11 & 12. Gross morphology of control meniscus (Fig. 11) and vascularized PGLA/PLA meniscus six weeks after intra-articular transplantation.

Figure 13. Gross morphology of meniscus harvested with and without vascularized meniscus.

Figure 14. Microphotograph (40X) of PGLA/PLA scaffold showing regular features of the free edge of specimen stained with toluidine blue.

Figure 15. Microphotograph (20X) of PGLA/PLA scaffold showing regular features of the free edge of specimen stained with toluidine blue.

Figure 16. Microphotograph (100X) of an area of engineered meniscus attachment to the capsule showing good transposition of the tissue into the surrounding capsule.

DISCUSSION

We were able to engineer meniscus-like tissue using autologous adult sheep fibrochondrocytes seeded onto pre-shaped PGLA/PLA scaffolds in an immune-competent animal model. Subcutaneous implantation of cell-polymer constructs allowed the cells to form matrix around the polymer fibers and maintain the size and shape of the original scaffold. We decided to grow the tissue subcutaneously before intra-articular implantation because the consistency of the original cultured cell-polymer constructs could not withstand the loads in the knee. A vascularized scaffold was successfully obtained by implanting it subcutaneously over a blood vessel. Once implanted into the joint, the engineered meniscus integrated into the normal meniscus tissue and joint capsule. After six weeks of intra-articular implantation, the constructs developed gross and histologic appearance similar to normal meniscus tissue. These findings are consistent with the results of previous studies using nude mice. Apparent differences were not found between vascularized and non-vascularized constructs. Long term studies might show more evident differences. We are currently performing studies to evaluate the best environment for meniscus formation: subcutaneous vs. intra-articular in immune-competent animals. Pre-vascularization could have a potential role in allowing direct supply of nutrients to the developing tissue, avoiding the potential risk of necrosis that free grafts seem to undergo after implantation in the knee. More thorough characterization of the new tissue and angle of the cells is still needed to be performed. However, this work shows a potential application of tissue engineering that could eventually offer an alternative to allograft meniscus transplantation.

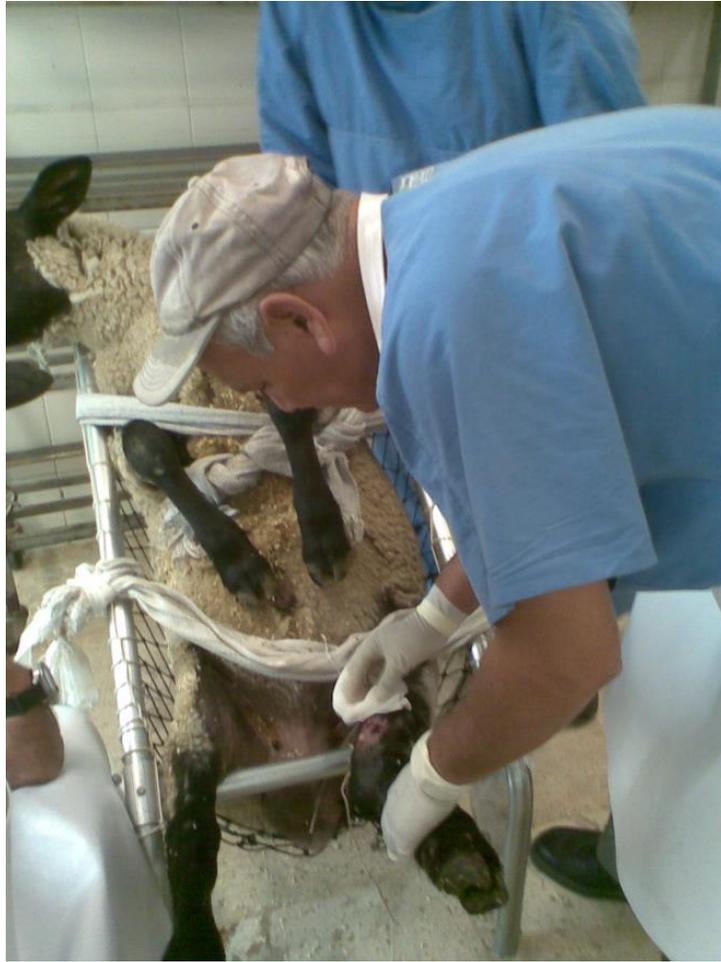
REFERENCES

1. Kim TH, Isogai N. Clin Sports Med. 19: 527-536, 1996.
2. Sano H. Clin Sports Med. 15: 557-571, 1996.
3. Smith C. J. Bone and Joint. 76A: 1770-1771, 1991.
4. Barr C, et al. Transplant Proc. 28: 366-369, 1997.
5. Barr C, et al. Tissue Engineering Society Meeting, Ottawa, IL, 1996.

ACKNOWLEDGMENTS

Funded by a grant from Advanced Tissue Sciences, La Jolla, CA and partially supported by CONACYT, Mexico.

Poster ubicado en la torre de investigación del Instituto nacional de Rehabilitación



Curaciones



Trasquila y lavado para cirugía



EVIDENCIA FOTOGRAFICA



Resguardo en corral externo.

Preoperatario.

La manipulación viene después del apartamiento del borrego, para dejarla en dieta de sólidos 24 horas y de líquidos 12 horas



en el aislamiento de sus corrales se les ponen espejos para disminuir la ansiedad de su manejo en claustrado. Pesaje revisión clínica, y lavado para la preparación para el quirófano



TRASQUILA LAVADO PARA TRASPORTARLA AL QUIROFANO.
PESAJE, TOMA DE HECES Y LAVANTAMIENTO DE LA HISTORIA CLINICA.

Trasquila o tricotomía, en el cuello y miembro torácico para canalización con sujeción firme para inducción o tranquilización; rasuradora con navaja del número 40.



Antes de inyectar o canalizar se desinfecta con torundas de algodón con alcohol mínimo al 70%.



de el tipo de procedimiento usar guante y tener previamente preparado los farmacos y aditamentos para el proceso. Tranquilisante, anestesico fijo, cinta adeciva; punsocan y torunda con alcohol en recipiente ermetico.



fijar.

La canalizacion y fijacion del cateter con cinta adeciva de buana calidad adeciva porque la grasa del ovino, que presenta suelen ser un inconveniente pero si se puede



Ya tranquilizada y anesteciada de acomodada en un carro para su trasportacion al quirofano.



Se da los ultimos recorte para el proceso de embrocamiento, que labado con jabon quirurgico y desinfeccion con yodo quirurgico.



PERIOPERATORIO

Lámpara de mano; sonda endotraqueal; laringoscopio modificado con luz, gel lubricante y varilla de aluminio para facilitar el entubamiento.



Fármacos y jeringas para la administración durante la cirugía y demás aditamentos que suelen requerirse.



Tabla de registro de anestesia y signos vitales y hoja de bitácora del quirófano.

Monitor y aparato de anestesia entubada para isoflurano.



El monitor de signos vitales cuenta con mini impresora y cardiograma.