

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS



**EVALUACIÓN ECOGRÁFICA DE ÓRGANOS EN LA CAVIDAD ABDOMINAL EN
RATONES (*Mus musculus*) BALB/c**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA: MARIEL BÚRQUEZ ESCOBEDO

DIRECTOR DE TESIS: DRA. ANA PAULINA HARO ÁLVAREZ

ASESORES:
DR. GILBERTO LÓPEZ VALENCIA
M.C. ALFONSO DE LA MORA VALLE
DR. ENRIQUE TRASVIÑA MUÑOZ

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

AGOSTO 2022

**EVALUACIÓN ECOGRÁFICA DE ÓRGANOS EN LA CAVIDAD ABDOMINAL EN
RATONES (*Mus musculus*) BALB/c**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Dra. Ana Paulina Haro Álvarez
Directora de Tesis

Dr. Gilberto López Valencia
Asesor de Tesis

M.C. Alfonso de la Mora Valle
Asesor de Tesis

Dr. Enrique Trasviña Muñoz
Asesor de Tesis

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Paulina Haro, por la dirección y asesoría durante el desarrollo de este y otros proyectos. Gracias por ser una gran mentora y por guiarme dentro del mundo de la investigación y le agradezco haberme dado la oportunidad de colaborar con usted.

Al Doctor Gilberto López, por su apoyo en la realización de la porción estadística de esta tesis. Gracias por ser un excelente tutor a través de la licenciatura, por canalizar mi interés por la investigación y por siempre alentarme a seguir hacia adelante.

Al Doctor Alfonso de la Mora, por su apoyo con el equipo de microscopía. Gracias por ser un gran maestro, mentor y por siempre impulsar mi interés por la patología.

Al personal y estudiantes del Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” por el apoyo en el desarrollo de este proyecto al igual que mis prácticas profesionales.

DEDICATORIA

A mis padres que siempre apoyaron mis sueños, por más radicales que fueran. Gracias por siempre guiar mi camino con paciencia, sabiduría y amor. Ustedes son mi máxima inspiración.

A mis amigos Mariana, Emiliano, Diego, Jorge, Citlalli, Mare, Gabriel, Brenda y Gaby. Gracias por nunca permitir que me sintiera sola, especialmente estos últimos dos años. Gracias por ayudarme a canalizar mi energía caótica y transformarla en grandes logros.

A todos los animales que se usan en la investigación biomédica, ustedes son la base de la salud humana y nunca podremos estar suficientemente agradecidos con sus aportaciones.

RESUMEN

El ratón (*Mus musculus*) es el modelo animal utilizado con más frecuencia en la investigación biomédica. La cepa de ratón BALB/c, se emplea para el estudio de enfermedades infecciosas y patologías degenerativas. El uso de ecografía como una herramienta diagnóstica es una opción valiosa en la investigación ya que tiene un bajo costo, es poco invasiva y ofrece imágenes en tiempo real. El objetivo del presente estudio es realizar la evaluación ecográfica de órganos de la cavidad abdominal en ratones BALB/c. Se emplearon 18 hembras sanas. Los animales fueron divididos en 3 grupos de 6 animales de diferentes edades: 7-8 semanas, 16-18 semanas y 29-31 semanas. Se realizó la evaluación ecográfica del hígado, vesícula biliar, estómago, bazo, riñones, vejiga urinaria, intestino delgado y recto. Para el procedimiento los animales fueron inmovilizados mediante el uso de isoflurano como anestésico y un equipo ESAOTE MyLab™ seven y un transductor lineal de 22 MHz. Los órganos se evaluaron utilizando el modo B. Se realizó la medición del diámetro de los órganos sólidos, el grosor de la pared en los órganos huecos y se registró la apariencia ecográfica y ecogenicidad. Se realizó el análisis de varianza de una vía para las medias obtenidas para cada órgano por grupo. Este es el primer estudio que describe el tamaño y apariencia de los órganos de la cavidad abdominal en ratones BALB/c mediante ecografía. Se encontró un incremento de tamaño estadísticamente significativo en la longitud del riñón derecho y en el grosor de su corteza en el grupo de ratones de 16-18 semanas. No se encontraron cambios significativos en otros órganos. Los resultados de este estudio pueden ser usados como referencia al monitorizar cambios en órganos abdominales durante la

investigación biomédica de enfermedades infecciosas y no infecciosas que utilizan como modelo experimental al ratón BALB/c.

Palabras claves: ultrasonido, ratones, órganos abdominales, diagnóstico por imagen

ABSTRACT

Mice are the most frequently used animal model in biomedical research. The BALB/c mice is an inbred strain widely employed in the study of infectious and degenerative pathologies. The use of echography as a diagnostic tool can be a valuable option in the research field due to low cost, being non-invasive and its ability to offer real-time images. The goal of this study is to evaluate the abdominal cavity organs using ultrasound in BALB/c mice. A total of 12 healthy female BALB/c mice were used and categorized within the age groups 7-8 weeks, 16-18 weeks and 29-31 weeks old. The echographic evaluation of the liver, gallbladder, stomach, spleen, kidneys, bladder, small intestine and rectum was performed under isoflurane anesthesia, using a ESAOTE MyLab™seven equipment and a 22 MHz linear transducer. Measurements of the diameter in solid organs, wall thickness in hollow organs and echographic appearance were assessed using B-mode. The means of the organ measurements of the three groups were analyzed using a one way analysis of variance. This is the first study describing the size and appearance of the abdominal cavity organs using ultrasound in mice. A statistically significant increase in the longitude of the kidney and thickness of the renal cortex in the group aged 16-18 weeks was observed. No other significant changes were detected in the other organs. The results of this study can be used as a reference while monitoring abdominal organ changes during experiments using BALB/c mice.

Keywords: Ultrasound, mice, abdominal organs, diagnostic imaging

CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vii
CONTENIDO	viii
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Historia de la ecografía	3
Principios físicos de formación e la imagen ecográfica	5
Propiedades de la ecografía	7
<i>Velocidad de propagación de onda</i>	8
<i>Impedancia acústica</i>	9
<i>Reflexión</i>	10
<i>Refracción</i>	11
<i>Atenuación</i>	11
Modalidades de la ecografía	12
Principios de interpretación de la imagen ecográfica	14
<i>Ecogenicidad</i>	14

<i>Ecotextura</i>	14
Artefactos observados en el exámen ecográfico	15
<i>Sombra acústica</i>	15
<i>Sombra de borde</i>	15
<i>Reverberación</i>	16
<i>Imagen en Espejo</i>	16
<i>Grosor de haz</i>	17
Uso de la ecografía en medicina veterinaria	17
Uso de la ecografía en modelos animals	18
<i>Primates</i>	19
<i>Cerdos</i>	20
<i>Ovinos</i>	21
<i>Conejos</i>	21
<i>Cobayos</i>	22
<i>Ratas</i>	22
<i>Ratones</i>	22
Anatomía ecográfica y abdominal de ratones (<i>Mus musculus</i>)	24
MATERIALES Y MÉTODOS	27
Lugar de estudio	27
Duración del studio	27
Orígen de la información	28
Diseño de estudio	27
Animales	28

Anestesia	28
Examen ecográfico de la cavidad abdominal	29
Recuperación anestésica	30
Sacrificio y necropsia	30
Procesamiento histopatológico	30
Análisis histopatológico	32
Análisis de imágenes ecográficas	32
Análisis estadístico.	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
Resultados ecográficos descriptivos y estadísticos.....	32
CONCLUSIONES.....	49
LITERATURA CITADA.....	50

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Velocidad de propagación de onda en diferentes tejidos	8
2	Impedancia Acústica en Diferentes Tejidos	9
3	Reflejo de Sonido en Diferentes Interfaces	10
4	Promedio de longitud del hígado en vista transversal por edad.	35
5	Promedio de grosor de la pared del estómago por edad	36
6	Promedios de diámetro del lumen del duodeno por edad	38
7	Promedios de grosor de la pared del duodeno por edad	40
8	Mediciones de riñón izquierdo obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades	42
9	Mediciones de riñón derecho obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades	43
10	Mediciones de vejiga obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades	47
11	Comparativa de ecogenicidades de órganos abdominales obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades	48

LISTA DE FIGURAS

Figura		Pág
1	Imagen ecográfica de hígado de ratón BALB/c y corte histopatológico teñido con hematoxilina eosina del órgano	34
2	Imagen ecográfica de bazo de ratón BALB/c y corte histopatológico teñido con hematoxilina eosina del órgano	36
3	Imagen ecográfica de estómago de ratón BALB/c y corte histopatológico teñido con hematoxilina eosina del órgano	38
4	Imagen ecográfica de intestino delgado de ratón BALB/c y corte histopatológico teñido con hematoxilina eosina del órgano.	40
5	Imagen ecográfica de riñón derecho de ratón BALB/c y corte histopatológico teñido con hematoxilina eosina del órgano	44
6	Imagen ecográfica de colon de ratón BALB/c y corte histopatológico teñido con hematoxilina eosina del órgano	45
7	Imagen ecográfica de vejiga de ratón BALB/c y corte histopatológico teñidos con hematoxilina eosina del órgano	46

INTRODUCCIÓN

La ecografía es una técnica de diagnóstico por imagen que utiliza la interacción de ondas de sonido con estructuras anatómicas para generar imágenes de órganos y estructuras en tiempo real. La ecografía es una técnica versátil, no invasiva, que posibilita el estudio de cambios en tejidos internos. Su utilidad en el diagnóstico se ha comprobado en un amplio rango de patologías, como por ejemplo, detección de neoplasias y su estadificación (Silva et al., 2018). La ecografía también se ha comprobado como una técnica de diagnóstico útil en el estudio de patologías gineco-obstétricas (Haarer, 2001).

Actualmente, tiene aplicaciones tanto en la práctica clínica veterinaria como en la investigación biomédica aplicada en modelos animales, especialmente el ratón (Coatney, 2001). El ratón es el animal de laboratorio más comúnmente utilizado en la investigación biomédica. Su amplio uso, se debe a su pequeño tamaño y sus similitudes fisiológicas con el ser humano. El modelo de ratón se emplea para el estudio de enfermedades infecciosas y degenerativas (Sarkey y Heise, 2019).

Actualmente, no existen estudios que describan la aplicación de la ecografía para evaluar la apariencia de todos los órganos de cavidad abdominal en este modelo animal. Resulta importante realizar estudios que permitan establecer los parámetros de apariencia ecográfica y tamaño normales de los órganos de cavidad abdominal en ratones sanos. La información obtenida pudiera ser útil en todas aquellas investigaciones

biomédicas tanto de enfermedades infecciosas como no infecciosas que afectan los órganos y sistemas de la cavidad abdominal.

El objetivo del presente estudio es realizar la evaluación ecográfica de órganos en la cavidad abdominal de ratones (*mus musculus*) BALB/c.

REVISIÓN DE LITERATURA

Historia de la Ecografía

La historia del uso de los ultrasonidos para el diagnóstico es relativamente moderna. Sus bases como instrumento médico comenzaron por el interés en las ondas sonoras utilizadas en un equipo desarrollado para la identificación de submarinos durante la segunda guerra mundial (Orenstein, 2008). Los principios de la ecografía diagnóstica se asocian con Karl Dussik, un neurólogo de la Universidad de Viena que utilizó esta técnica para intentar visualizar neoplasias cerebrales en 1940 (Newman y Rozycki, 1998). Después de este descubrimiento, dentro de la comunidad médica estalló un gran interés por explorar las posibilidades que tenía la ecografía como herramienta diagnóstica (Orenstein, 2008).

Posteriormente, el Dr. George D. Ludwig desarrolló una serie de estudios en el Naval Medical Research Center de Bethesda, Maryland en Estados Unidos para reportar el uso de esta nueva tecnología en el estudio de tejidos blandos. Uno de los experimentos más significativos culminó en lograr visualizar cálculos biliares en modelos caninos. Ludwig se interesó en estudiar la velocidad de los ultrasonidos en tejidos blandos, y con base a una serie de estudios, llegó a la conclusión que la velocidad promedio de este fenómeno era de 1540 metros por segundo (Newman y Rozycki, 1998). El hallazgo de esta constante fue clave en el desarrollo de parámetros utilizados para generar imágenes médicas.

En 1949, Douglas Howry desarrolló el primer equipo con la capacidad de generar imágenes en modo B. El modo B permite, una vista bidimensional de las estructuras de interés. En 1954, el investigador militar Inglés Ian Donald, solidificó el uso del ultrasonido como herramienta diagnóstica cuando publicó sus hallazgos bajo un artículo denominado “Investigación de Masas Abdominales utilizado Ultrasonido Pulsado” (Erjavic, 2018). En esta publicación detalló el diagnóstico de un quiste ovárico en una paciente de 64 años que previamente había sido diagnosticada con una neoplasia gástrica (Orenstein, 2008).

Tomando en cuenta los hallazgos de Howry y Donald, Siemens Medical Systems® introduce al mercado el primer equipo de ecografía con capacidad de proyectar imágenes en tiempo real en 1966. Este equipo contaba con un transductor en una bolsa de agua que generaba 15 imágenes por segundo del órgano que se buscaba estudiar. En los años setentas y ochentas, se impulsó la investigación para mejorar la calidad y variedad de transductores disponibles, culminando en nuevos avances como el transductor lineal y el transductor de arreglo en fase. En los ochentas surgió la computadora personal, que también otorgó la capacidad de visualizar las imágenes con mayor resolución (Newman y Rozycki, 1998).

La ecografía diagnóstica es relativamente moderna y aunque sus orígenes son meramente militares, ha revolucionado la capacidad que existe para la visualización de órganos de forma no invasiva. Es importante recordar que, actualmente, es la única técnica de diagnóstico por imagen que permite observar estas estructuras en tiempo real (Lento y Primack, 2008). Otro punto a su favor es que la exposición a ondas de

ultrasonido no tiene efectos negativos, como en el caso de los rayos X (Martin, 2017). La ecografía diagnóstica no sólo se ha convertido en una herramienta de gran utilidad en la clínica sino también en la investigación biomédica (Haro, 2020). Los avances tecnológicos para la evolución ecográfica se continuarán innovando, generando imágenes con mayor resolución y con esto, diagnósticos más precisos.

Principios físicos de formación de la imagen ecográfica

Para comprender los fundamentos de la imagen ecografía se debe conocer sobre la física del sonido. El sonido es una serie de vibraciones que atraviesan la materia en estado sólido, líquido o gas. El sonido produce ciclos de ondas que pueden variar en longitud y amplitud.

Amplitud: la amplitud se refiere a la fuerza que tiene la misma onda y se mide en decibeles (dB) (Pennick y D'anjou, 2018).

Longitud de la onda: se refiere a la distancia entre cada banda de compresión compuesta por moléculas que se encuentran atravesando un medio y está relacionado con la frecuencia de la señal (Carovac, 2011). Mientras más corta la onda, se producen más ciclos por segundo, esto equivale a un aumento en la frecuencia (Nyland and Mattoon, 2015).

Velocidad: la velocidad de propagación es otro factor importante ya que representa la velocidad con la que la onda de ultrasonido atraviesa el tejido (Murthi, 2010). Aunque esta idea se revisa más a fondo en otra sección, es importante mencionarla por su relación a los otros dos términos (Abu-Ziddan, 2011).

Frecuencia: es el número de ondas que atraviesan un punto fijo, o una estructura, en una unidad de tiempo. En este caso las ondas son de sonido y la unidad asociada es el hertz (Hz) (Anderson, 2000).

La ecuación que integra estos conceptos es:

$$\text{Velocidad } (v) = \text{longitud } (\lambda) \times \text{frecuencia } (f)$$

Las frecuencias de las ondas de sonido se miden en ciclos por segundo. Por lo tanto, un hertz es un ciclo por segundo. Un millón de ciclos se describe como un Megahertz (MHz), y esta unidad es la que se utiliza para describir las frecuencias de sonido emitidas a partir del transductor en la ecografía médica (Aldrich, 2007).

Por lo tanto, los ultrasonidos se pueden definir como ondas de sonidos con una frecuencia superior a lo que sería perceptible por el oído humano, lo cual es de 20 a 20,000 Hz (Nyland y Mattoon, 2014).

El equipo de ecografía se compone de un transductor, una unidad central de procesamiento de datos, un monitor para proyectar las imágenes, un teclado y en

algunos casos una impresora (Enriquez, 2014). El transductor cuenta con cristales piezoeléctricos, a base de cuarzo, que se deforman al recibir una carga eléctrica y en cambio emite una vibración inicial. Esta onda de ultrasonido viaja a los tejidos que se buscan analizar, y al colisionar con los tejidos, se generan ecos que viajan de retorno hacia el transductor. Los ecos de nuevo producen una alteración física en los cristales del transductor y la información sobre los ecos obtenidos, cada uno generando imágenes que posteriormente se observan en el monitor del equipo utilizado. (Nyland y Mattoon, 2014).

En la mayoría de los equipos comercialmente disponibles los transductores producen frecuencias en promedio de 2 a 20 MHz, esto equivale a 2 a 20 millones de ciclos por segundo (Pennick y d'Anjou, 2015).

Propiedades de la ecografía

La evaluación de los diferentes órganos y tejidos se realiza mediante la observación de la imagen en la pantalla de la computadora. Las características observadas dependen de una serie de conceptos base que intervienen como velocidad de propagación de la onda, impedancia acústica, atenuación y reflexión .

Velocidad de propagación de onda :La velocidad con la que la onda de ultrasonido atraviesa un tejido está relacionada a la densidad del medio que atraviesa, ya sea agua, gas o sólido. Aunque la frecuencia se mantenga constante, existe variación

de las velocidades entre los diferentes tejidos del organismo durante el examen ecográfico (Aldrich, 2007) Las velocidades de propagación de onda en los diferentes tejidos, se pueden referenciar en el Cuadro 1.

Los ultrasonidos viajan a través de los tejidos blandos a una velocidad promedio de 1540 metros por segundo y una densidad promedio de 1.05 g/cm². Para tener una mejor idea de este concepto, se puede comparar la velocidad de propagación de onda un tejido blando con un tejido altamente denso como en el caso del hueso que tiene una velocidad de 4080 m/s y una densidad de 1.7 g/cm².

Cuadro 1. Velocidad de propagación de onda en diferentes tejidos.

(Curry et al. 1990).

Material o Tejido	Velocidad (m/seg)
Aire	331
Grasa	1450
Agua	1540
Cerebro	1541
Hígado	1549
Riñón	1561
Tejidos Blandos	1540
Sangre	1570
Músculo	1585
Hueso	4080

Impedancia acústica: La impedancia acústica se puede definir como la resistencia que tiene el tejido hacia la propagación de la onda. Este concepto es el producto de la densidad del tejido y la velocidad de la propagación de onda y representa las características de transmisión de un tejido de una manera visible en el monitor durante el examen ecográfico. El eco de retorno que se genera cuando la onda de ultrasonido se encuentra con el tejido y es reflectada, varía en cada estructura. Lo anterior significa que la impedancia acústica de cada tejido también tiene variaciones significativas. La amplitud del eco de retorno es proporcional a la diferencia de impedancia acústica entre dos tejidos cuando la onda de ultrasonido colisiona con su interfaz. El eco de retorno es más fuerte cuando interactúa con tejidos que tienen una diferencia de impedancia acústica aumentada mientras que el eco de retorno es más débil cuando se interactúa con tejidos que tienen una impedancia acústica similar. Al realizar un examen ecográfico, es preferible tener variación en la impedancia acústica para permitir una mejor observación de sus tejidos y sus características en cuanto a estructura y textura (Pennick y d'Anjou, 2008). La impedancia acústica en diferentes materiales o tejidos se puede observar en el Cuadro 2.

La impedancia acústica se representa con la siguiente fórmula:

Impedancia acústica (Z)= velocidad (u) x densidad de tejido (p)

Cuadro 2. Impedancia Acústica en Diferentes Tejido

(Curry et al. ,1990).

Material o Tejido	Impedancia Acústica
Aire	0.0004
Grasa	1.38
Agua	1.54
Cerebro	1.58
Sangre	1.61
Riñón	1.62
Hígado	1.65
Músculo	1.70
Hueso	7.8

**Impedancia Acústica (Z)= $\times 10^6$ kg/m²- segundos*

Reflexión: La onda de ultrasonido que genera el transductor cuando se lleva a cabo un estudio ecográfico también se puede denominar onda incidente. La onda incidente genera dos fenómenos llamados reflexión y refracción al interactuar con los tejidos. Cuando la onda de ultrasonido colisiona con los tejidos que se buscan analizar, una porción de ella se refleja, y genera el eco de retorno que se observa en la pantalla. Este eco se observa como una señal más brillante, o más blanca, en el monitor cuando se trata de un reflejo que contiene mayor energía de sonido (Zagzebski,1996). Si la diferencia entre la impedancia acústica de los dos tejidos es significativa, la reflexión es mayor y por lo tanto el eco más brillante en el monitor (Nyland y Mattoon, 2014) . La reflexión de los ultrasonidos en diferentes interfaces se puede observar en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Reflexión de los ultrasonidos en Diferentes Interfaces.

(Hagen-Ansert, SL, 1989).

Interface	Reflexión (%)
Sangre-Cerebro	0.3
Riñón-Hígado	0.6
Sangre-Riñón	0.7
Hígado-Músculo	1.8
Sangre-Grasa	7.9
Hígado-Grasa	10
Músculo-Grasa	10
Músculo-Hueso	64.6
Líquido-Hueso	68.4
Tejido Blando-Gas	99

Refracción: Existe una porción de la onda incidente que no genera reflexión y continúa su paso a través de los tejidos que se busca analizar, esta propiedad se denomina como refracción. En comparación con la reflexión, la refracción no vuelve a tener contacto con el transductor. Es importante notar que el ángulo de la onda de refracción depende de la velocidad de la propagación de onda (Nyland y Mattoon, 2014).

Atenuación: La atenuación es un término utilizado para describir la pérdida de energía acústica cuando la onda incidente interactúa con los tejidos. Este concepto es importante porque, al igual que las propiedades mencionadas previamente, cada tejido o material cuenta con una atenuación diferente y esto afecta la imagen observada en el monitor directamente. La atenuación, o la pérdida de esta energía es causada por

diferentes factores, entre ellos la absorción de la energía, reflexión y refracción de la onda incidente y la dispersión de la onda a través de un tejido (Amin, 1989).

Cada tejido tiene un coeficiente de atenuación distinto que se expresa en decibeles. De manera general, el aire se considera un material de alta atenuación mientras que los fluidos se consideran un material de baja atenuación (Amin, 1989).

Modalidades de la ecografía

El equipo de ultrasonido cuenta con una serie de modalidades para representar la información obtenida en la pantalla. Cada modalidad debe ser seleccionada según el tipo de estudio que se busca llevar a cabo. Las que se utilizan con más frecuencia son el Modo A (Amplitud), el Modo M (Tiempo Movimiento), Modo Doppler y Modo B (Brillo).

Modo A: es la versión más antigua que existe de visualización de ondas de ultrasonido y se expresa en una gráfica con un eje x y un eje y. Cada eco de retorno se proyecta como una pulsación individual que indica la profundidad de la estructura que se busca estudiar. Se puede utilizar para diferenciar estructuras sólidas y quísticas (Chintapula, 2015).

Modo M: se utiliza con frecuencia durante el examen ecocardiográfico para poder observar la actividad del corazón así como medir sus estructuras y cavidades. (Saul, 2015).

Modo Doppler: es utilizado para evaluar el flujo sanguíneo. Tiene diferentes representaciones como el doppler color, doppler poder y doppler modo continuo y pulsado. (Carovac, 2011).

Modo B: se usa comúnmente en estructuras fijas con poco movimiento natural como tejidos blandos. En el monitor se observan diferentes escalas de grises representando órganos, estructuras vasculares, y alteraciones en sus apariencias (Li, 2017). *Modo B:* también conocido como modo brillo genera imágenes bidimensionales en tiempo real. Se usa comúnmente en estructuras fijas con poco movimiento natural como tejidos blandos. En la pantalla se observan imágenes en diferentes escalas de grises, directamente relacionadas con la amplitud de los ecos captados por el transductor. Las escalas de grises son puntos que representan las variaciones de amplitud entre los diferentes tejidos. El modo B normalmente se representa en el monitor con el transductor en la parte superior indicando la zona más superficial mientras que la profundidad continúa incrementando hasta llegar a la parte más inferior del monitor.

Los diferentes rangos de ecogenicidad que se capturan en Modo B lo hace la modalidad de preferencia para hacer exámenes sistemáticos donde se comparan diferentes órganos, como en el caso de la evaluación de la cavidad abdominal (Zagzebski, 1980).

Principios de interpretación de la imagen ecográfica

Ecogenicidad: La ecogenicidad de un tejido se describe como la habilidad determinada de transmitir ecos en el contexto de las estructuras a su alrededor. En relación a otros tejidos en cercanía, un órgano se puede describir como hiperecogénico, hipoecogénico, isoecogénico o anecogénico. Una estructura hiperecogénica se observa en la pantalla de un color blanco. En cuanto una estructura hipoecogénica, se observa menos ecogénica que una estructura hiperecogénica, observándose esta en una escala de grises. Una estructura hipoecogénica representa a un tejido con menor impedancia acústica (Lobo, 2018).

Una estructura isoecogénica se refiere a una estructura con la misma ecogenicidad que otra aledaña. Por lo que el gris observado en la pantalla es igual a la estructura con la que se compara. Un tejido anecogénico describe lo que se observa como completamente negro y se observa así debido a que no tiene impedancia acústica y no genera ecos de retorno (Ihnatsenka, 2010).

Ecotextura: Cuando se describe una estructura también se consideran texturas como granular, homogénea, heterogénea. El conocimiento de las eco texturas de los órganos que se busca estudiar, es esencial para poder distinguir lo normal de lo anormal (Nyland y Mattoon, 2014). Los cambios de ecotextura pueden aparecer de manera difusa a través del órgano o en ciertas regiones. Un ejemplo de este signo es una pérdida de la textura homogénea y lisa del hígado asociado a una variedad de condiciones que pueden causar fibrosis hepática (Mathiesen, 2002).

Artefactos observados en el exámen ecográfico

Los artefactos en la ecografía son un fenómeno que ocurre cuando una estructura no se representa correctamente en el monitor. La importancia en reconocer los artefactos adecuadamente evitará confusión al interpretar la imagen y emitir un diagnóstico. En ciertos casos, un órgano en buen estado puede generar un artefacto que puede confundirse con alguna patología. Sus causas son diversas pero todas se relacionan con las interacciones entre el sonido y la materia. En ciertos casos se relaciona con el equipo de ultrasonido u otros materiales en cercanía como la mesa, interferencia de aparatos tecnológicos que interrumpan los ultrasonidos o cuerpos extraños dentro del mismo paciente. Por otro lado, también existen artefactos asociados al sesgo de parte del operador en cuanto el equipo y su interpretación (Kremkau y Taylor, 1986).

Sombra acústica: la sombra acústica se observa como una zona hipoecogénica o anecogénica posterior a un tejido o estructura que normalmente se considera de alta atenuación. La causa de este artefacto se relaciona a que existe una absorción de la mayoría del haz incidente por una estructura de alta atenuación, como son aquellas de origen mineral. Una estructura que comúnmente causa esto son las costillas durante el examen ecográfico torácico y abdominal. En otros casos puede ser un factor patológico como urolitiasis o colelitiasis (Nyland y Mattoon, 2014).

Sombra de Borde: la sombra de borde aparece como una zona hipoecogénica en las orillas de una estructura redondeada. Durante el examen ecográfico abdominal

esto puede ocurrir con órganos saludables como en el caso de los riñones. Este artefacto está asociado al fenómeno de refracción y puede causar confusión ya que altera la percepción de la pared del órgano, causando una apariencia patológica en ciertos casos (Nyland & Mattoon, 2014).

Reverberación: la reverberación ocurre cuando la onda incidente interactúa con una interfase de alta impedancia acústica, como en el caso de tejido y gas o fluidos y gas. El eco de alta intensidad que se genera, colisiona con el transductor y entra otra vez al paciente. Esto produce una serie de líneas hiperecogénicas al borde de la estructura que se está observando. Se pueden observar varias líneas equidistantes de este tipo ya que la generación y el retorno del eco se encuentran en un ciclo constante (Scanlan, 1990).

Imagen en Espejo: los artefactos en espejo se producen cuando la onda incidente se propaga a través de una estructura sólida y heterogénea, con la capacidad de actuar como un espejo. Los ecos retornan entre la interfaz reflectora y la estructura y eventualmente regresan al transductor. En el monitor se visualizan dos estructuras similares separadas equidistantemente por un borde hiperecogénico (Ahn, 2013).

Grosor de haz: El artefacto de grosor de haz ocurre cuando se utiliza un haz demasiado amplio a la hora de llevar a cabo el estudio ecográfico. En ciertas ocasiones, el mismo haz puede interactuar con una estructura quística al mismo tiempo que con una

estructura sólida. Esto puede registrar ecos dentro de la estructura quística y también reducir el contraste de los bordes entre ambas estructuras (Scanlan, 1990).

Uso de la Ecografía en Medicina Veterinaria

En la medicina veterinaria, la ecografía se empezó a utilizar como una herramienta primordialmente en las áreas de producción en los años sesenta, específicamente en la detección de gestación en ovinos (King, 2006). En el caso de los bovinos y los cerdos, es común ver el uso de ecografía en diferentes fases de producción; desde el diagnóstico de la gestación (Racewicz, 2016), así como en las etapas de finalización del ganado donde se mide el espesor de la grasa dorsal para predecir la composición del ganado (Joshi, 2009). En la clínica de equinos, la ecografía ha resultado como una herramienta sumamente importante en la examinación del sistema musculoesquelético. En el caso de los caballos atletas, las lesiones en tendones son frecuentes, y el uso de la ecografía puede proporcionar una evaluación en tiempo real de aquellos tendones que son complicados de visualizar, como en el caso del tendón digital profundo (Padaliya et al, 2015).

En el caso de la práctica clínica de pequeñas especies, la ecografía es una técnica de diagnóstico que se aplica en una variedad de procedimientos como el diagnóstico de gestación, detección de neoplasias, y evaluación de patologías abdominales y cardíacas principalmente (King, 2004), así como en procedimiento intervencionistas como anestesia regional, entre otros (Haro, 2012).

Uso de la Ecografía en Modelos Animales

La importancia de los modelos animales en la investigación biomédica se basa en que se puede utilizar un modelo vivo, con gran similitud a la anatomía humana, sin la necesidad de arriesgar la vida humana como tal. Otra ventaja es que se puede mantener una población de estudio genéticamente similar, lo que resulta en resultados replicables. Muchos de estos animales también se pueden alterar genéticamente para hacerlos modelos más aptos para la condición que se busca estudiar o tratar (Barre-Sinoussi, 2015).

A través de los años, las herramientas utilizadas en la investigación animal han evolucionado a grandes pasos. Las necropsias y disecciones *in vivo* (bajo anestesia) aún son métodos valiosos para analizar resultados en los modelos murinos pero ahora existen nuevas técnicas que ayudan a visualizar su anatomía *in situ*, por tejidos o hasta por composición molecular que permiten realizar procedimientos diagnósticos con los estándares de bienestar animal como los son las técnicas de diagnóstico no invasivas (Ruberte et al , 2017).

Existe una variedad de técnicas de diagnóstico por imagen que se pueden emplear para el estudio no invasivo en modelos animales. Las técnicas de diagnóstico por imagen más frecuentemente utilizadas en la investigación biomédica son la tomografía computarizada, la resonancia magnética y la ecografía. En el caso de la resonancia magnética, tanto los equipos como su mantenimiento se tienen que ajustar a las necesidades de tamaño de cada especie (Glodek, 2016). Además, hay estudios que

involucran implantar dispositivos a base de metal dentro de los modelos, lo que haría que esta herramienta fuera de uso inadecuado. La tomografía es una técnica mínimamente invasiva, pero siempre estará relacionada con los efectos negativos que puede causar la exposición a la radiación a largo plazo (Wiest, 2002). La ecografía tiene una gran ventaja, si se compara con las anteriores técnicas descritas es que es de bajo costo, no invasiva y la única que proporciona imágenes en tiempo real. Todas las técnicas anteriores requieren de un protocolo de anestesia apto, sin efectos adversos a largo plazo, para inmovilizar al animal (Lauber, 2017).

La ecografía en animales del laboratorio se ha utilizado en un rango de especies y de enfoques pero existe una marcada preferencia por modelos mamíferos ya que su anatomía tiene mayor similitud a la del humano. Lo anterior es especialmente significativo en los estudios que involucran los órganos de la cavidad abdominal. Una forma de clasificar a los modelos animales que se utilizan frecuentemente en el laboratorio para la investigación de patologías relacionadas a los órganos de la cavidad abdominal es utilizar una escala de mayor a menor similitud al ser humano (Lauber, 2017).

Primates: El macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) y el mono tití (*Cebuella pygmaea*) son los primates de preferencia en la investigación biomédica por su tamaño reducido. Aun así, existen experimentos que utilizan primates de mayor escala como el chimpancé (*Pan troglodytes*), pero esto es menos común. Un uso importante de la ecografía abdominal en primates es su aplicación para la investigación del sistema reproductivo en hembras. En el 2018, la Universidad de Harvard buscó estudiar más a fondo la

neuropatología fetal relacionada con el virus del zika utilizando el macaco rhesus como modelo animal. Una parte vital de este estudio fueron la ecografías fetales que se llevaron a cabo en los animales gestantes (Martinot, 2018).

Cerdos: Los cerdos (*Sus scrofa domesticus*) son un modelo animal que ha aumentado en popularidad debido a su similitud anatómica con el ser humano en cuanto a su sistema cardiovascular, urinario y digestivo (Swindle, 2011). El hígado y el páncreas son dos órganos que se estudian con frecuencia utilizando modelos porcinos. Algunos protocolos de investigación en cuanto a patologías hepáticas incluyen biopsias con aguja fina y estas normalmente se apoyan en el ultrasonido abdominal para su precisión (Jahromi, 2015).

Ovinos: Los ovinos (*Ovis aries*) se utilizan en la investigación biomédica principalmente en estudios de patologías relacionadas a la ortopedia y cardíacas. Su tamaño reducido, cuidados sencillos y temperamento tranquilo los convierte en un modelo que comúnmente se utiliza para estudiar dispositivos médicos nuevos como marcapasos (Sartoretto, 2016). Al paso del tiempo, el ovino se ha empezado a utilizar como un modelo para el estudio del desarrollo fetal, con un enfoque en fisiopatologías del sistema urinario y renal del feto. El ultrasonido fetal ha sido una herramienta importante para asesorar y estudiar estas anomalías en ovinos, y eventualmente utilizar los hallazgos encontrados en estudios para tratamientos dirigidos a humanos (Ward, 2006).

Conejos: Los conejos (*Oryctolagus cuniculus*) son un modelo animal que se utiliza con frecuencia en una variedad de experimentos biomédicos porque su tamaño pequeño los hace un animal de cuidados económicos y también porque tienen una rápida maduración sexual y gestación (Mapara, 2012). Los conejos muestran una tendencia a desarrollar una neoplasia denominada VX2, que tiene como origen etiológico el papillomavirus. El VX2 ahora se utiliza como un modelo para estudiar neoplasias humanas como en el caso del carcinoma hepatocelular (Aravalli, 2015). En algunos experimentos, se implanta un fragmento de la neoplasia VX2 en el hígado para convertirlo en el tejido diana para tratamientos en investigación. El examen ecográfico abdominal se utiliza para monitorear el desarrollo de la neoplasia y la efectividad de los fármacos (White, 2015).

Cobayos: Los cobayos (*Cavia porcellus*) o conejillos de la India son animales que han sido un modelo animal de preferencia desde el siglo diecinueve. Son de talla aún más pequeña que el conejo y al igual que estos, se consideran dóciles. En cuanto al sistema inmune, se consideran más parecidos a los humanos a comparación de otros modelos roedores como la rata o el ratón y los hace un modelo eficiente al estudiar enfermedades infecciosas (Padilla-Carlin, 2008). El citomegalovirus es un patógeno de la familia herpesviridae que se observa en una variedad de especies y que, en el caso de transmisión vertical, llega a causar problemas de visión y auditivos. La cepa de citomegalovirus que afecta al cobayo es la única cepa en modelos animales pequeños que también tiene potencial de transmisión vertical, lo que lo hace un modelo animal ideal

para estudiar este virus. En este tipo de estudios, el ultrasonido fetal es utilizado para monitorizar la gestación en modelos animales con una alta carga viral (Benoist, 2008).

Ratas: Las ratas (*Rattus norvegicus*) son un roedor, que al igual que el ratón, se consideran indispensable en todo tipo de investigación biomédica por su similitud anatómica y fisiológica al humano, al igual que por su talla pequeña. La ecografía es una herramienta que se ha descrito en varios experimentos que utilizan la rata como modelo animal (Bryda, 2013). Un uso reportado de la ecografía abdominal en esta especie es la investigación del sistema reproductivo de la hembra, y eventualmente utilizar esa información para tratamientos de reproducción asistida en humanos (Wang, 2017).

Ratones: El ratón (*Mus musculus*), o modelo murino, es el modelo animal más utilizado en la investigación biomédica. Su tamaño pequeño hace que sus cuidados sean rentables en cuanto a estudios que necesitan una población extensa. Su material genético tiene una similitud del 99% a la del humano, y los modelos murinos se pueden alterar genéticamente para replicar las condiciones que hacen a un humano susceptible a la enfermedad que se busca estudiar (Vandamme, 2014).

El origen de los ratones de laboratorio se desarrolla a partir de 1913, cuando H.J. Bagg, un investigador de Columbia University empieza a generar una serie de cruza consanguíneas para eliminar la heterogeneidad poblacional de este modelo animal y así poder tener individuos genéticamente homogéneos para investigación (Nishioka, 1995). Una de las cepas de ratones albinos que se genera es la Bagg Albino, o BALB.

Generaciones después, las primeras cepas de esta generación son adquiridas por The Jackson Library, donde se denominan BALB/c (Potter, 1985). Esta cepa de ratones se utiliza extensivamente en estudios para una variedad de patologías, incluyendo aquellas de origen infeccioso, pero por sus sensibilidad a los cancerígenos, se emplea con frecuencia en estudios para tratamientos oncológicos (Lush, 1986).

La ecografía en ratones, ha sido empleada para la evaluación individual de órganos abdominales. Se ha utilizado para estudios sobre el adenocarcinoma pancreático. En este caso se utilizó la ecografía abdominal para monitorear el desarrollo de esta neoplasia en ratones genéticamente alterados para expresar la proteína humana Thy-1, un marcador vascular importante en el desarrollo de esta neoplasia (Foygel, 2013). En otros estudios, han empleado la ecografía para estudiar la formación y desarrollo de aneurismas de la aorta abdominal a base de modelos murinos (Poulsen, 2016). Finalmente, al igual que otros modelos animales, se utilizan ratones gestantes para estudiar patologías congénitas, utilizando el ultrasonido fetal como herramienta principal.

La versatilidad de la ecografía abdominal para estos, y más estudios, origina una demanda por tener mayor conocimiento sobre las estructuras de la cavidad abdominal al igual que su tamaño y apariencia ecográfica. Sin embargo hasta el momento no existen estudios que describan la apariencia ecográfica de todos los órganos contenidos en cavidad abdominal en ratones sanos.

Anatomía Ecográfica y Abdominal de Ratones (*Mus musculus*)

Hígado: como en muchas especies, el hígado del ratón se encuentra en la porción craneal del abdomen, detrás del diafragma. En cuanto a su morfología, el ratón tiene un lóbulo izquierdo, situado a la izquierda del esófago, el cual es el de mayor tamaño. Cuentan también con un lóbulo derecho localizado a la derecha de la vena cava, un lóbulo caudado localizado dorsal a la porta hepática y un lóbulo cuadrado localizado ventral a la porta hepática. Si se compara con otras especies, los lóbulos tienen separaciones. El derecho y el izquierdo tienen sus partes mediales y laterales. El caudado se compone por una porción papilar y una porción caudada. El cuadrado, que es el lóbulo que se observa como más central en la cara visceral del hígado, es el más pequeño, y no cuenta con una división. En el ratón, la vesícula biliar se encuentra entre las porciones mediales del lobo izquierdo y derecho (Ruberte, Carretero & Navarro, 2017).

Bazo: el bazo del ratón se encuentra en la porción izquierda del abdomen, junto a la curvatura mayor del estómago. Al igual que otras especies, se compone por una pulpa blanca y una pulpa roja. En el caso de los roedores, la pulpa roja es especialmente importante en el proceso de hematopoyesis en la etapa fetal y neonatal. Morfológicamente, el bazo del ratón se diferencia de otras especies por contar con dos venas esplénicas (craneal y caudal), ambas provenientes de la arteria celíaca (Ruberte et al, 2017).

Estómago: el estómago del ratón es similar al de varios mamíferos ya que su estructura también se divide en fondo, cuerpo y píloro. Aunque no es exclusivo de la especie, algo distintivo es que el estómago del ratón cuenta con una porción glandular y una porción no glandular. La mucosa no glandular del estómago se expande sobre una porción del fondo y del cuerpo mientras que el resto del cuerpo y el píloro tienen una mucosa glandular. Ambas mucosas se dividen por el *margo plicatus* (Ruberte et al, 2017).

Intestino Delgado: el intestino delgado del ratón se compone del duodeno, yeyuno e íleon. Tiene una longitud de aproximadamente 35 centímetros, y su textura no cuenta con pliegues circulares como en otras especies.

Ciego: el ciego del ratón empieza justo cuando termina el íleon, y tiene una longitud de 3-4 cm. Se encuentra del lado izquierdo del abdomen y su posición puede variar levemente dependiendo su nivel de contenido (Ruberte et al. 2017).

Riñones: los riñones en los ratones se localizan dorsalmente en la cavidad abdominal. El riñón derecho se encuentra más craneal que el izquierdo y tiene contacto directo con el lóbulo caudado del hígado. Los riñones se describen con forma de frijol y tienen una cápsula adiposa que actúa como una capa protectora. Las glándulas adrenales se encuentran en una posición suprarrenal (Ruberte et al. 2017).

Vejiga: la vejiga es un órgano músculo-membranoso se encuentra en la parte más distal de la cavidad pélvica. Es un órgano hueco que su forma y tamaño dependen del volumen de contenido. Tiene un vértice, que es su parte más craneal, un cuerpo y un cuello en su parte más caudal. La vejiga contiene un orificio uretral que conecta los uréteres con su lumen. En su parte distal, la vejiga se conecta con la uretra. En los machos, la uretra es parte del sistema reproductor mientras que en las hembras es independiente a ello (Ruberte et al. 2017).

Intestino Grueso: el intestino grueso del ratón mide aproximadamente 10 a 14 centímetros. El colon se divide en colon ascendente, colon descendente y colon transverso y tiene una apariencia significativamente más lisa que en los humanos. El colon ascendente es largo y se encuentra en la porción derecha del abdomen, corriendo paralelo al duodeno. El colon transverso es relativamente corto, y el colon descendente está situado en la porción izquierda del abdomen, uniéndose con el recto (Ruberte et al, 2017).

Recto: el recto se encuentra en la parte más caudal de la cavidad pélvica y se conecta con el ano (Ruberte, et al. 2017). El recto tiene una longitud aproximada de 2.2 centímetros en los ratones (Yamanaka, 1982).

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio

Este estudio se divide en tres fases: una fase de experimentación animal, una fase de interpretación de imágenes ecográficas, y finalmente, una fase de comparación con material histopatológico. La fase de experimentación animal se desarrolló en el Área de Imagenología y Señales Biomédicas del Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigaciones Regionales (CIR) “Dr. Hideyo Noguchi” de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). La fase de lectura e interpretación de imagen se realizó en el Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California.

Duración del estudio

La fase experimental se llevó a cabo en un periodo de 3 meses (CIR-UADY). La fase de lectura de imágenes se desarrolló en un periodo de un mes (IICV-UABC) y la fase de comparación de imágenes y estadística se llevó a cabo en un mes.

Origen de la información

Se utilizaron 36 ratones (*Mus musculus*) sanos hembra de la cepa BALB/c adquiridos del bioterio de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se dividieron en 3 grupos de acuerdo con su rango de edad, en total fueron 6 ratones juveniles (7-8 semanas de edad), 6 ratones adultos (16-18 semanas de edad), 6 ratones gerontes (29-31 semanas de edad).

Diseño de estudio

Se realizó un estudio prospectivo, observacional.

Animales

Los animales fueron recibidos y aclimatados durante 10 días posteriores a su llegada. Al momento de su recepción se les realizaron muescas en las orejas para su identificación. Previo a su examen ecográfico, los animales se mantuvieron en un bioterio siguiendo todas la normatividad señalada en la NOM-062-ZOO 1999. Los roedores se alojaron en jaulas de policarbonato en grupos de 6 animales. Estas jaulas se encontraban adaptadas a un sistema de filtrado de la marca Smart Flow (Techniplast®) con una capacidad de 75 recambios de aire por hora. Los ratones fueron alimentados con una dieta balanceada comercial (Rodent Lab Chow 5001®) y contaron libre acceso al agua. Las condiciones climáticas de este espacio se mantuvieron con una humedad de 70% y una temperatura de 20-24°C.

Anestesia

Para realizar el examen ecográfico de la cavidad abdominal los animales fueron inmovilizados mediante anestesia inhalada. Se colocaron en una cámara de inducción con una infusión de 3% de isoflurano por 0.5L/min de O₂ hasta que el animal llegara a un plano anestésico profundo (pérdida de reflejo podal, disminución de frecuencia respiratoria, y pérdida de respuesta a estímulos). Posteriormente, se continuó su anestesia con con una mascarilla anestésica a dosis de mantenimiento de 1.5-2.5% de isoflurano con 0.5L/min O₂. El roedor se colocó decúbito supino sobre una plataforma

térmica para mantener su temperatura corporal a 37°C, (Patterson Scientific®) y se empleó un monitor quirúrgico que tiene la capacidad de medir frecuencia cardiaca, respiratoria y temperatura. Para monitorizar la temperatura, se colocó una sonda rectal previamente lubricada. Siempre considerando el bienestar animal, se utilizaron gotas de lubricante oftálmico (Meticel al 2%) para mantener una lubricación adecuada y evitar la formación de úlceras corneales. La dosis anestésica administrada durante el procedimiento siempre fue ajustada a las necesidades de cada ratón. Las constantes del animal eran observadas y registradas en una bitácora durante todo el estudio ecográfico.

Examen Ecográfico de la Cavity Abdominal

Se empleó el equipo de ecografía MyLabSeven® veterinario de la marca ESAOTE® y un transductor lineal de 22 MHz. El pelo de la zona abdominal del animal fue removido utilizando crema depilatoria (Nair™). Los órganos se visualizaron en modo B, se obtuvieron imágenes en el eje corto y eje largo. Se evaluó la apariencia ecográfica, ecotextura y tamaño y cuando era el caso se documentó el patrón de capas y patrón de contenido. Se realizaron imágenes que fueron almacenadas para su posterior estudio.

El examen ecográfico de la cavity abdominal se realizó en el sentido de las manecillas del reloj en el siguiente orden: hígado, duodeno, estómago, bazo, riñón izquierdo, vejiga, recto y riñón derecho. Se evaluó la apariencia, ecotextura y ecogenicidad. Se realizaron mediciones en el eje largo y corto. Para órganos huecos se se determinó la distención, se midió el grosor de la pared (excepto vejiga) y se visualizó

el patrón de capas y de contenido. En riñón se registró el diámetro de la corteza renal adicionalmente. Se realizó la comparación de ecogenicidades entre hígado, bazo y riñón.

Recuperación anestésica

El animal se desconectó de la mascarilla anestésica y se colocó en una jaula individual, la temperatura corporal fue mantenida utilizando un foco infrarrojo. Se observó su respiración y hasta que el animal recuperó un estado consciente. Al recuperar su conducta y coordinación normal, el animal se regresó a la jaula original con los demás individuos.

Sacrificio y necropsia

Al día siguiente, se práctico el sacrificio de los animales del estudio. Loa animales fueron anestesiados mediante una dosis de 10 miligramos por kilogramo de xilacina y ketamina administrada en la zona peritoneal, posteriormente, se empleó la dislocación cervical. Al verificar que el animal estaba muerto, se procedió a llevar a cabo una necropsia. Se analizaron los órganos *in situ* y posteriormente se removieron los órganos individualmente para ser examinados. Se tomaron muestras de los órganos abdominales y se colocaron en formol al 10% con pH de 7.4 para después ser procesados para su análisis histopatológico.

Procesamiento histopatológico

El procesamiento de tejidos para su estudio histopatológico se compone de varios pasos hasta llegar a su montaje sobre la laminilla.

Fijación: se lleva a cabo para detener la autólisis de los tejidos a consecuencia de los cambios postmortem. Una vez seleccionadas las muestras de los tejidos que se busca procesar se colocan en una solución de formol al 10% en una proporción de 1 a 10, considerando el tamaño del tejido. Se recomienda dejar que el formol penetre al tejido por 12 a 24 horas para su fijación óptima (Slaoui y Fiette, 2011).

Deshidratación: se hacen cortes de los tejidos fijados suficientemente pequeños y delgados para poder ser colocados en unos cassettes de plástico. Posteriormente se deshidratan los tejidos en una serie de etanoles a diferentes concentraciones, 70%, 95% y 100% (Slaoui y Fiette, 2011).

Aclaramiento e infiltración: los tejidos se aclaran en un solvente de parafina (xileno) para posteriormente ser infiltrados con parafina (Comanescu, 2012).

Inclusión: se remueve la tapa del cassette y el resto del cassette en conjunto con el tejido se sumerge en un molde de metal con parafina. Una vez solidificado, se remueve el molde de metal, y el tejido se encuentra listo para cortar (Comanescu, 2012).

Microtomía: el bloque de parafina se monta en el microtomo, que utiliza navajas de alta precisión para poder obtener láminas de 4-5 micrómetros de grosor. Después se hidrata el tejido en un baño de agua. Posteriormente, el tejido se monta sobre una laminilla y se seca.(Comanescu, 2012).

Tinción y montaje: se utiliza una tinción de hematoxilina y eosina como la tinción estándar para observar órganos y otros tejidos de los cuales no se sospeche una agente patógeno específico. (Comanescu, 2012).

Análisis histopatológico

Se utilizó un microscopio Olympus® BX43 para evaluar los órganos estudiados ecográficamente y llevar a cabo una comparativa visual.

Análisis de Imágenes Ecográficas

Se analizaron las imágenes adquiridas por examen ecográfico utilizando el software MyLab™Desk. Se realizaron mediciones en eje largo y corto, así como de grosor de pared para órganos huecos. También, se registraron las características como contenido, ecotextura y ecogenicidad de cada órgano en cada animal.

Análisis Estadístico

Se determinaron las medidas de los órganos de la cavidad abdominal de todos los ejemplares en los tres grupos de edad. Estas mediciones se recabaron en una base de datos utilizando el programa Excel. Se hizo un análisis ANOVA de una vía con el fin de identificar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los promedios de los diferentes órganos analizados y también se llevo a cabo una comparación entre las mediciones de los órganos de los tres grupos de edad utilizando el programa Statistix®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que describe la apariencia ecográfica y dimensiones ecográficas de los órganos abdominales a diferentes edades en la cepa de ratón BALB/c. Los resultados ecográficos descriptivos son consistentes con los estudios anatómicos que se encuentran en el reporte de anatomía comparativa en ratones de Treuting, Dontzis y Montine (2017).

Hígado

El hígado del ratón se encuentra en la parte más craneal de la cavidad abdominal como la mayoría de los mamíferos. Se puede diferenciar del bazo, que se encuentra caudal y a la izquierda de este, gracias a su ecotextura heterogénea granular. En todos los casos los vasos sanguíneos se identificaron por ser pequeñas zonas circulares con apariencia hipoecogénica. La vena cava se puede observar como una estructura anecoica caudal y ventral al hígado. Se observa de mayor tamaño a la porta hepatis. Craneal al hígado se puede observar el diafragma como una línea hiperecogénica y caudal al hígado se pueden identificar diferentes porciones del intestino delgado, reconocibles por sus paredes hiperecogénicas y la motilidad constante. La comparativa imagen ecográfica al igual que histopatológica se puede observar en la Figura 1. El hígado se encuentra significativamente más craneal que el riñón derecho. En el modelo murino, es complicado identificar la vesícula biliar por su tamaño tan pequeño, cuando es identificable, se observa como una estructura redonda y anecoica. No se observaron

diferencias estadísticamente significativas en las mediciones realizadas entre los tres grupos de edad (Cuadro 4). El hígado tiene menor ecogenicidad si se compara con el bazo y mayor ecogenicidad que la corteza renal de ambos riñones.

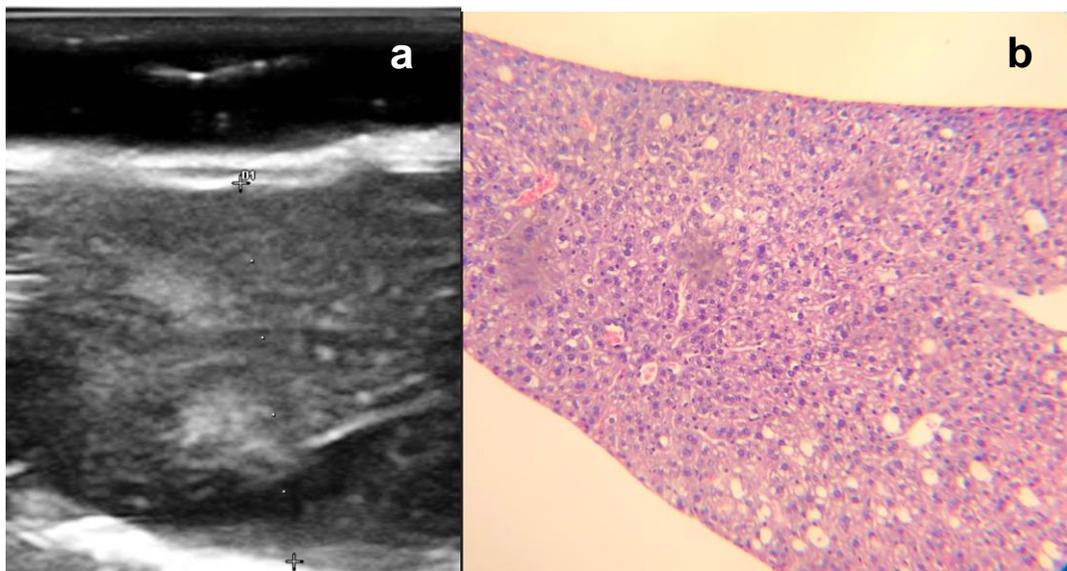


Figura 1. Comparativa visual de hígado en modelo murino BALB/C. (a) Imagen ecográfica de hígado en modo B, vista transversal. (b) Imagen de corte histopatológico usando objetivo 40x utilizando tinción hematoxilina y eosina de hígado del mismo ratón.

Cuadro 4. Promedio de altura de hígado en ratones hembra BALB/c según edad, obtenido a través de ecografía vista transversal.

Edad	N	Media (mm)
Juvenil (7-8 semanas de edad)	6	9.817
Adulto (16-18 semanas de edad)	6	10.183
Geronte (29-31 semanas de edad)	6	9.583
		P= .6735

Bazo

El bazo se observa caudal al lóbulo izquierdo del hígado. Durante el examen ecográfico se observa con una ecotextura menos granular que la del hígado al igual que más hipoecogénica en general. No se identifican vasos sanguíneos tan claramente como en el caso del hígado. Cuando se está desarrollando el exámen ecográfico en la vista transversal, se puede observar el bazo como una estructura hipoecogénica triangular craneal al riñón izquierdo. La comparativa visual ecográfica e histopatológica, puede observarse en la Figura 2. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones realizadas entre los tres grupos de edad (Cuadro 5).

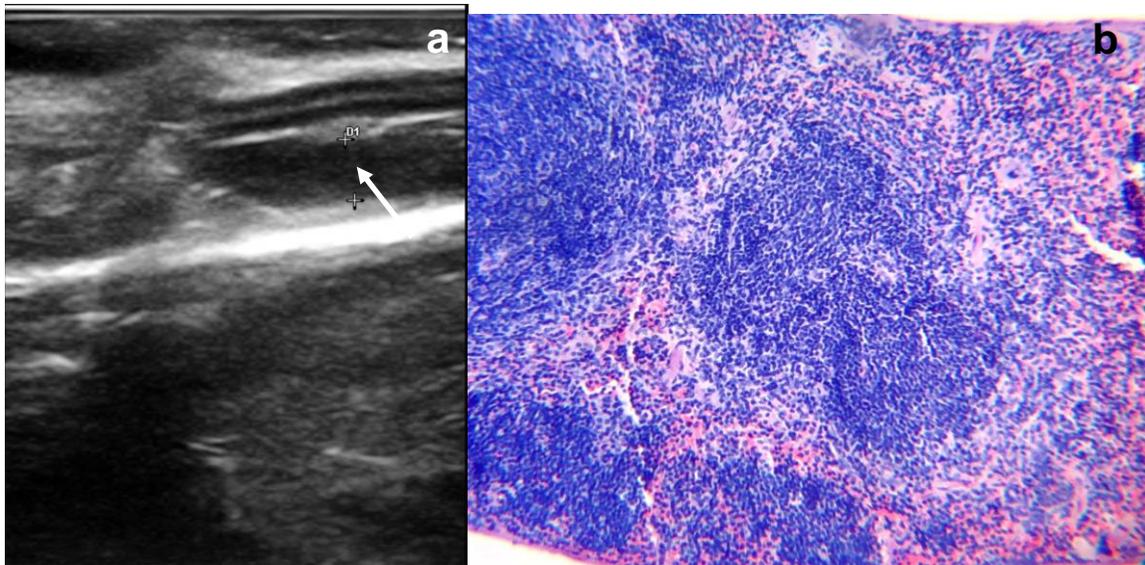


Figura 2. Comparativa visual de bazo en modelo murino BALB/C. (a) Imagen ecográfica de Bazo (flecha blanca) en modo B, vista longitudinal. (b) Imagen de corte histopatológico en objetivo 40x de bazo utilizando tinción hematoxilina y eosina.

Cuadro 5. Promedio de altura de bazo en ratones hembra BALB/c según edad, obtenido a través de ecografía longitudinal.

Edad	N	Media (mm)
Juvenil (6-8 semanas de edad)	6	2.316
Adulto (16-18 semanas de edad)	6	1.966
Geronte (29-31 semanas de edad)	6	2.100
		P= 0.316

Estómago

El estómago se encuentra caudal al hígado y localizado a la izquierda de la cavidad. Su apariencia depende del tipo y el volumen del contenido. Las principales variantes del contenido observadas fueron patrón líquido, gaseoso y alimentario, otorgando diferentes ecogenicidades. En el caso del líquido se observa un patrón consistentemente anecoico, mientras que en el caso de gas se observa contenido más ecogénico con sobra acústica. Cuando el animal consume alimentos, se observa un contenido ecogénico y ecotextura heterogénea. La apariencia ecográfica al igual que la apariencia histopatológica se puede observar en la Figura 3. Cuando el animal tiene el estómago vacío, el órgano adquiere una apariencia que se describe como “patrón de roseta”. Durante la examinación de este puede encontrarse vacío, con poca distensión o distendido. Como la apariencia ecográfica de este órgano puede variar, se decidió adquirir únicamente la medida de su pared, independiente del contenido al momento del exámen. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones realizadas entre los tres grupos de edad (Cuadro 6).

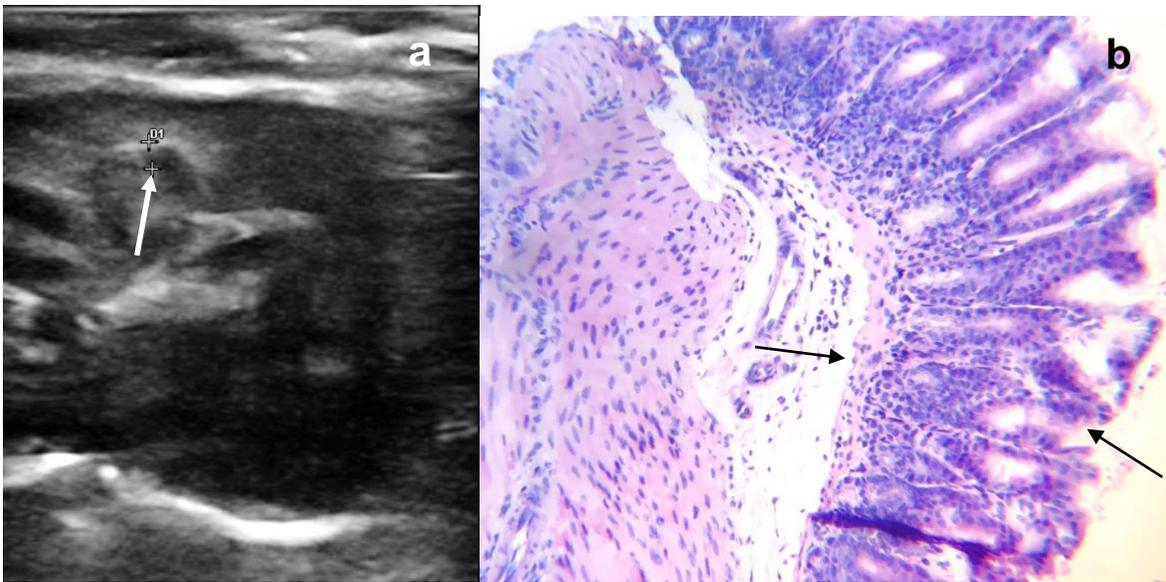


Figura 3. Comparativa visual de estómago en modelo murino BALB/C. (a) Imagen ecográfica en modo B, pared de estómago observada en vista longitudinal (flecha). (b) Corte histopatológico de estómago en objetivo 40x teñido con hematoxilina y eosina.

Pared de estómago (flechas negras).

Cuadro 6. Promedio de grosor de la pared del estómago en ratones hembra BALB/c según edad, obtenido a través de ecografía .

Edad	N	Media (mm)
Juvenil (6-8 semanas de edad)	6	0.9550
Adulto (16-18 semanas de edad)	6	0.9600
Geronte (29-31 semanas de edad)	6	0.5671

P= 0.0578

Duodeno

El duodeno se reconoce por sus bordes hiperecogénicos y su constante motilidad en animales sanos. Se puede observar la estructura tubular en una imagen transversal a nivel del hígado. Al igual que el estómago, su apariencia depende de su contenido, y las características y variantes de contenido son similares que en el órgano previamente mencionado. En el duodeno se pueden identificar cuatro capas en el siguiente orden desde la más externa a la mas interna: hiperecoica, hipoecoica, hiperecoica e hipoecoica. Estas capas son representativas de la histología del intestino delgado. La primera representa la serosa, la segunda la capa muscular, la tercera representan la submucosa y por último la mucosa, esta de mayor grosor que las anteriores. La apariencia ecográfica e histopatológica se pueden observar en la Figura 4. . No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones realizadas entre los tres grupos de edad (Cuadro 7).

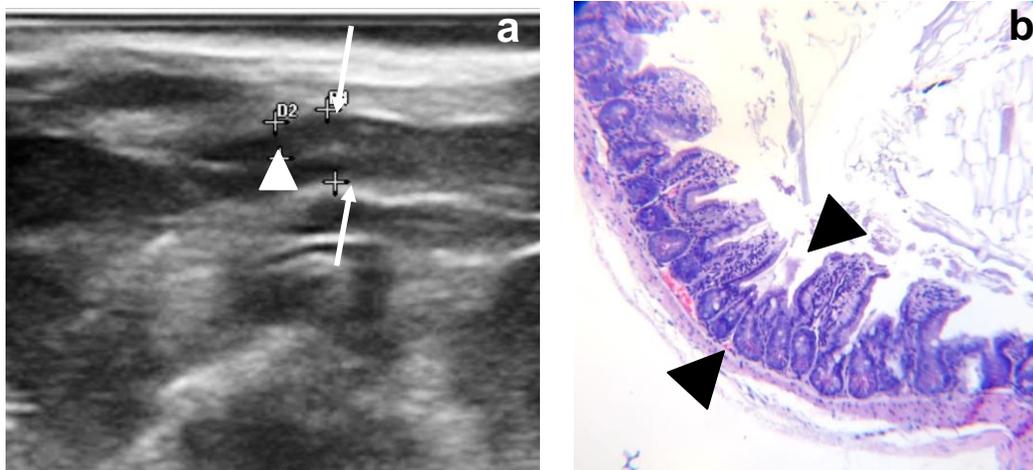


Figura 4. Comparativa visual de duodeno en modelo murino BALB/C. (a) Imagen ecográfica en Modo B de porción de duodeno en vista longitudinal. Se observa el diámetro de duodeno (flechas blancas) y la pared del duodeno (cabeza de flecha). (b) Corte histopatológico en objetivo 40x de duodeno utilizando tinción hematoxilina y eosina. Se observa el grosor de pared de duodeno (cabezas de flecha negra)

Cuadro 7. Promedios de mediciones en duodeno de ratones hembra BALB/c sanas según edad, obtenido por ecografía según por edad.

Edad	N	Media diámetro (mm)	Media grosor de pared (mm)
Juvenil (6-8 semanas de edad)	6	2.416	1.150
Adulto (16-18 semanas de edad)	6	2.433	1.223
Geronte (29-31 semanas de edad)	6	2.133	1.123
		P= 0.445	P= 0.449

Riñón izquierdo

El riñón izquierdo se localiza en la parte más dorsal del lado izquierdo de la cavidad abdominal. Se encuentra levemente más craneal al bazo y caudal al hígado. El riñón izquierdo. La corteza renal se observó más ecogénica que el bazo. En el caso del ratón se pueden observar las pirámides medulares como zonas menos ecogénicas a comparación de la corteza aunque en ciertos casos su definición puede ser atenuada por la grasa del seno ileorenal que adquiere una apariencia isoecogénica. La cápsula del riñón se observa como una línea levemente más ecogénica a la corteza. La apariencia ecográfica e histopatológica del riñón se pueden observar en la Figura 5. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones realizadas entre los tres grupos de edad (Cuadro 8).

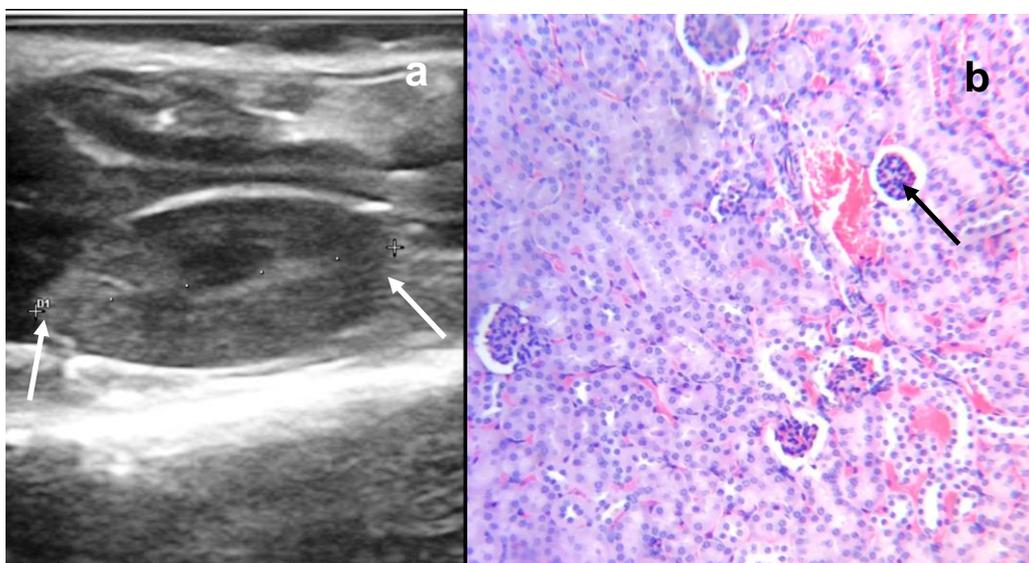


Figura 5. Comparativa visual de riñón derecho en modelo murino BALB/C. (a) Imagen ecográfica en modo B de riñón derecho en vista longitudinal. (b) Corte histopatológico de riñón y sus nefronas usando objetivo 40x (flecha negra) y utilizando la tinción de

hematoxilina y eosina.

Cuadro 8. Promedio de mediciones de riñón izquierdo obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades.

	Juvenil n=6 (7-8 semanas) Media en mm	Adulto n=6 (16-18 semanas) Media en mm	Geronte n=6 (29-31 semanas) Media en mm	Valor de P
Eje largo				
Longitud	9.776	9.266	8.883	0.086
Grosor	4.516	4.533	4.416	0.817
Corteza	1.316	1.265	1.231	0.079
Eje corto				
Longitud	6.116	6.833	6.233	0.173
Grosor	4.453	4.666	4.450	0.480
Corteza	1.233	1.333	1.250	0.430

Riñón derecho:

El riñón derecho se encuentra en la parte más dorsal de la cavidad abdominal. Se encuentra levemente más caudal al lóbulo medial derecho del hígado. Durante el examen ecográfico, se observó que la corteza es más ecogénica que la médula en animales sanos.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias del riñón derecho en la vista transversal y el grosor de la corteza del riñón derecho en la vista transversal. La media en el grupo juvenil fue significativamente menor si se compara con el grupo de adultos y los gerontes (Cuadro 9). En este grupo, el órgano es de un menor

tamaño y esto se puede correlacionar que en el caso del ratón, el tamaño del riñón ha sido asociado al peso y masa corporal en general (Murawski, 2010). En un estudio realizado por Banzato y colaboradores se observó un hallazgo similar en los riñones de las ratas (*Rattus norvegicus*) donde hay relaci. Esto es relevante en la investigación biomédica ya que se observan las mismas tendencias en los humanos, indicando que el modelo murino es una buena opción para experimentos en el área de nefrología (Murawski, 2010).

Cuadro 9. Promedio de mediciones de riñón derecho obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades.

	Juvenil n=6 (7-8 semanas) Media en mm	Adulto n=6 (16-18 semanas) Media en mm	Geronte n=6 (29-31 semanas) Media en mm	Valor de P
Eje largo				
Longitud	9.816	9.5	9.817	0.0018
Grosor	4.416	4.416	4.433	0.995
Corteza	1.283	1.300	1.216	0.637
Eje corto				
Grosor	4.453	4.666	4.450	0.480
Corteza	1.600	1.416	1.178	0.025

Intestino Grueso:

El colon y el recto se encontraron consistentemente en la parte caudal de la cavidad abdominal, dorsal a estructuras como el útero y la vejiga. Al igual que otras estructuras tubulares del sistema digestivo. La comparativa entre la imagen ecográfica y la histopatológica se pueden observar en la Figura 6. En cuanto al examen ecográfico es sumamente complicado distinguir el colon y el recto, en el caso del ratón, el recto se describe teniendo un largo más significativo que en el caso de otras especies. Considerando que el diámetro al momento del exámen puede depender de las heces en el tracto, se midió el grosor de la pared y el lumen. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones realizadas entre los tres grupos de edad.

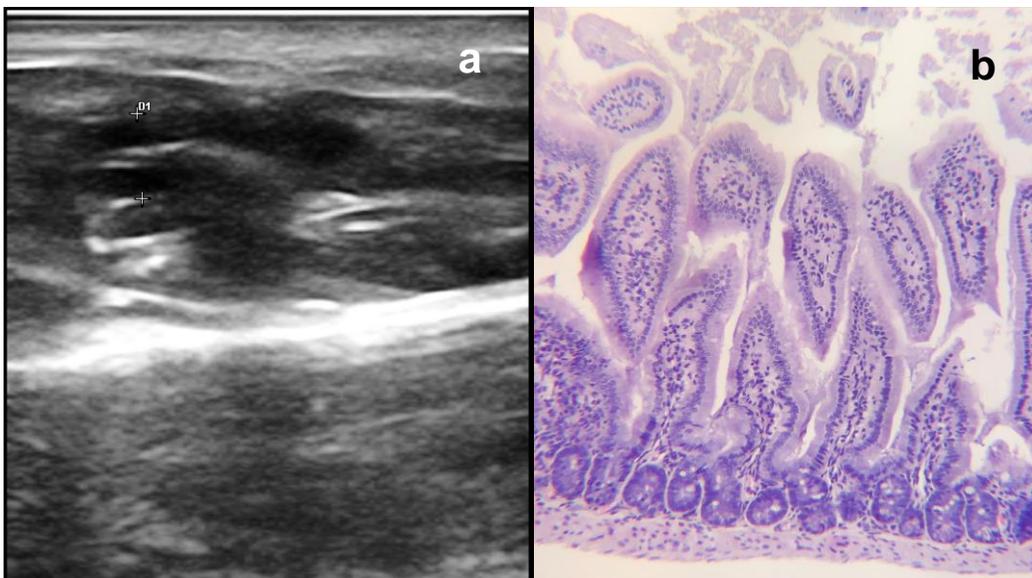


Figura 6. Comparativa visual de colon en modelo murino BALB/C. (a) Imagen ecográfica en modo B de colon en vista longitudinal. (b) Corte histopatológico de colon utilizando usando objetivo 40x y tinción de hematoxilina y eosina.

Vejiga

La vejiga se localiza en la parte más caudal de la cavidad abdominal, ventral al colon y al útero. En todos los ejemplares, la vejiga se observó como una estructura totalmente anecoica durante el examen ecográfico, lo indicado para animales sanos. La apariencia ecográfica e histológica de esta estructura se pueden observar en la Figura 7. Su distensión varió entre vacía, poca distensión, distensión moderada y plétora. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones realizadas entre los tres grupos de edad (Cuadro 10). El promedio del largo de la vejiga fue significativamente mayor en el grupo juvenil a comparación de los grupos adultos y gerontes. En el caso del largo de la vejiga en vista transversal, el promedio de tamaño en el grupo juvenil fue estadísticamente mayor que en el grupo adulto y geronte. En algunos estudios se ha demostrado que bajo condiciones de estrés, se disminuye la capacidad de vaciar la vejiga (Mingin et al, 2015). En el resto de los órganos abdominales no se encontraron diferencias significativas.

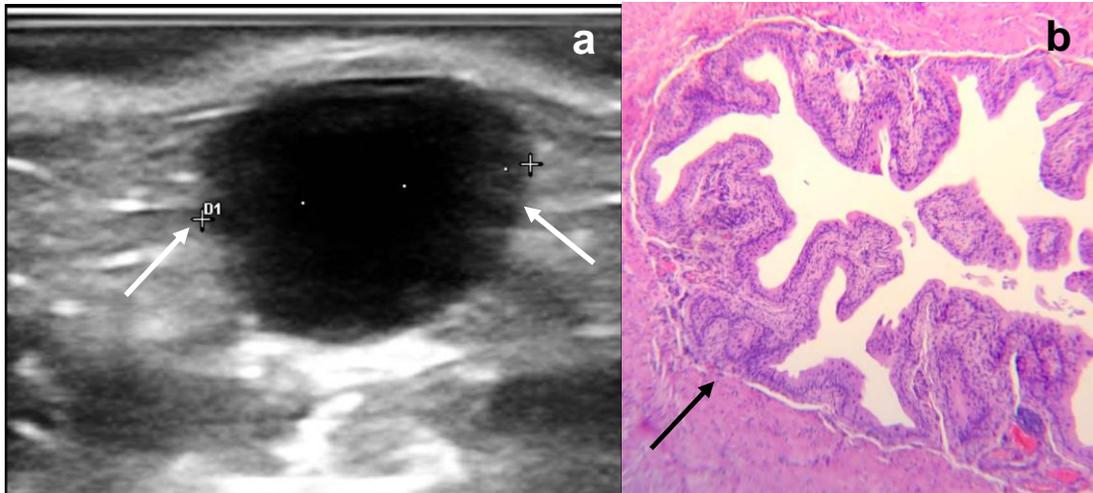


Figura 7. Comparativa visual de vejiga en modelo murino BALB/C. (A) Imagen ecográfica de vejiga en modo B en vista transversal (flechas blancas). Se observa un llenado moderado. (B) Corte histopatológico de vejiga (flechas negras) utilizando objetivo 40x y tinción hematoxilina y eosina.

Cuadro 10. Promedio de mediciones de vejiga obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades.

	Juvenil n=6 (7-8 semanas) Media (mm)	Adulto n=6 (16-18 semanas) Media (mm)	Geronte n=6 (29-31 semanas) Media (mm)	Valor de P
Eje largo				
Longitud	6.238	7.683	7.716	0.237
Altura	4.933	4.336	5.500	0.658
Eje corto				
Longitud	6.700	6.540	6.683	0.932
Altura	4.433	3.460	3.333	0.038

Comparación de ecogenicidades entre órganos

La comparación de ecogenicidades del hígado, bazo y los riñones es parte del examen ecográfico abdominal. Estos parámetros ya se encuentran establecidos en otras especies animales. Las alteraciones en estas características pueden ser indicadores de alguna patología. En el grupo de ratones juveniles, el bazo es más ecogénico que el hígado y la corteza renal izquierda. El hígado en este grupo es más ecogénico o isocogénico a la corteza renal derecha. En el grupo de ratones adultos, el bazo es más ecogénico que el hígado y el hígado es hipocogénico a la corteza renal derecha. En el grupo de ratones gerontes el bazo es hiperecogénico al hígado y la corteza renal izquierda. En este grupo el hígado es hiperecogénico a la corteza renal derecha. Las características de comparación de ecogenicidades se pueden observar en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Comparativa de ecogenicidades de órganos abdominales obtenidas mediante ecografía en ratones hembras BALB/c sanas de diferentes edades.

	Juvenil (7-8 semanas) Ecogenicidad (n)	Adulto (16-18 semanas) Ecogenicidad (n)	Geronte (29-31 semanas) Ecogenicidad (n)
Hígado			
Corteza Renal Izquierdo	Hiperecogénico (3)	Hipoecogénico (4)	
Corteza Renal Derecho	Isoecogénico (2) Hiperecogénico: (4)	Hipoecogénico: (5)	Hiperecogénico (1)
Bazo			
Hígado	Hiperecogénico (2)	Hiperecogénico (2)	Hiperecogénico (1)
Corteza Renal Izquierda	Hiperecogénico (2)	Hipoecogénico (3) Hiperecogénico (1)	Hipoecogénico (2)

CONCLUSIONES

La ecografía es útil para evaluar los órganos de la cavidad abdominal en ratones BALB/c .

El largo del riñón y el grosor de la corteza del riñón derecho en la vista transversal es menor en ratones juveniles.

En ratones juveniles el bazo es hiperecogénico respecto al hígado y el hígado hiperecogéno/isecogénico respecto a la corteza renal.

En ratones adultos, bazo es hiperecogénico/isoecogénico respecto a riñón y el riñón el hiperecogénico respecto al hígado.

En ratones gerontes el bazo es hiperecogénico respecto al hígado y el hígado es hiperecogénico a la corteza renal.

El presente estudio establece una guía para la descripción ecográfica de los órganos abdominales de ratones hembras sanos de la cepa BALB/c a diferentes edades.

LITERATURA CITADA

Abu-Zidan, F. M., Hefny, A. F., & Corr, P. (2011). Clinical ultrasound physics. *Journal of emergencies, trauma, and shock*, 4(4), 501–503.

Ahn, H., Hernández-Andrade, E., Romero, R., Ptwardhan, M., Goncalves, L. F., Auriolles-Garibay, A., Garcia, M., Hassan, S. S., & Yeo, L. (2013). Mirror artifacts in obstetric ultrasound: case presentation of a ghost twin during the second-trimester ultrasound scan. *Fetal diagnosis and therapy*, 34(4), 248–252.

Aldrich J. E. (2007). Basic physics of ultrasound imaging. *Critical care medicine*, 35(5 Suppl), S131–S137.

Amin, V. R. (1989). Ultrasonic attenuation estimation for tissue characterization. *Iowa State University*.

Anderson, M. E., McKeag, M. S., & Trahey, G. E. (2000). The impact of sound speed errors on medical ultrasound imaging. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 107(6), 3540–3548.

Barré-Sinoussi, F., & Montagutelli, X. (2015). Animal models are essential to biological research: issues and perspectives. *Future science OA*, 1(4), FSO63.

Benoist, G., Salomon, L. J., Mohlo, M., Suarez, B., Jacquemard, F., & Ville, Y. (2008). Cytomegalovirus-related fetal brain lesions: comparison between targeted ultrasound examination and magnetic resonance imaging. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 32(7), 900–905.

Carovac, A., Smajlovic, F., & Junuzovic, D. (2011). Application of ultrasound in medicine. *Acta informatica medica : AIM : journal of the Society for Medical Informatics of Bosnia & Herzegovina : casopis Društva za medicinsku informatiku BiH*, 19(3), 168–171.

Chintapula, Uday. (2015). A-MODE ULTRASOUND TECHNIQUE DEVELOPMENT FOR REGISTERING SKULL SURFACE IN COMPUTER-AIDED SURGERY.

Comanescu, M., Annaratone, L., D'Armento, G., Cardos, G., Sapino, A., & Bussolati, G. (2012). Critical steps in tissue processing in histopathology. *Recent patents on DNA & gene sequences*, 6(1), 22–32.

Christensen, E., Curry, T., Dowdy, E., & Murry, R. (2022). *Christensen's Physics of Diagnostic Radiology by Thomas S. Curry III MD (1990–08-01)*. LWW; Fourth edition (1990–08-01).

Enriquez, J. L., & Wu, T. S. (2014). An introduction to ultrasound equipment and knobology. *Critical care clinics*, 30(1), 25–v.

Foygel, K., Wang, H., Machtaler, S., Lutz, A. M., Chen, R., Pysz, M., Lowe, A. W., Tian, L., Carrigan, T., Brentnall, T. A., & Willmann, J. K. (2013). Detection of pancreatic ductal adenocarcinoma in mice by ultrasound imaging of thymocyte differentiation antigen 1. *Gastroenterology*, 145(4), 885–894.e3.

Głodek, Joanna & Adamiak, Zbigniew & Przeworski, Adam. (2016). Magnetic Resonance Imaging of Reptiles, Rodents, and Lagomorphs for Clinical Diagnosis and Animal Research. *Comparative medicine*. 66. 1-4.

Hagen-Ansert, S. (2017). *Textbook of diagnostic sonography* (8th ed.). Elsevier.

Haro, P., Laredo, F., Gil, F., Belda, E., Ayala, M. D., Soler, M., & Agut, A. (2013). Ultrasound-guided dorsal approach for femoral nerve blockade in cats: an imaging study. *Journal of feline medicine and surgery*, 15(2), 91–98.

Ihnatsenka, B., & Boezaart, A. P. (2010). Ultrasound: Basic understanding and learning the language. *International journal of shoulder surgery*, 4(3), 55–62.

Hamidian Jahromi, A., Ballard, D. H., Bahrami, R., & D'Agostino, H. R. (2015). Comparison of Different Techniques of Ultrasound-Guided Fine Needle Biopsy of Liver in a Swine Model. *Hepatitis monthly*, 15(6), e26439.

Joshi, Nanda & Herdt, Thomas. (2009). Clinical Use of Ultrasound for Subcutaneous Fat Thickness Measurements in Dairy Cattle. *Current Veterinary Therapy*. 5. 150-152. 10.1016/B978-141603591-6.10039-

King, 2006

King A. M. (2006). Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 171(3), 408–420.

Kremkau, F. W., & Taylor, K. J. (1986). Artifacts in ultrasound imaging. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine*, 5(4), 227–237.

Lauber, D. T., Fülöp, A., Kovács, T., Szigeti, K., Máthé, D., & Szijártó, A. (2017). State of the art in vivo imaging techniques for laboratory animals. *Laboratory animals*, 51(5), 465–478.

Lento, P.H., & Primack, S.J. (2008). Advances and utility of diagnostic ultrasound in musculoskeletal medicine. *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine*, 1, 24 - 31.

Li, L., Zhou, X., Zhao, X., Hao, S., Yao, J., Zhong, W., & Zhi, H. (2017). B-Mode Ultrasound Combined with Color Doppler and Strain Elastography in the Diagnosis of Non-mass Breast Lesions: A Prospective Study. *Ultrasound in medicine & biology*, 43(11), 2582–2590.

Lobo, Maité. (2018). Ecografía de tiroides. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 29. 440-449. 10.1016/j.rmclc.2018.06.002.

Martin, C. J., Vassileva, J., Vano, E., Mahesh, M., Ebdon-Jackson, S., Ng, K. H., Frush, D. P., Loose, R., & Damilakis, J. (2017). Unintended and accidental medical radiation exposures in radiology: guidelines on investigation and prevention. *Journal of radiological protection : official journal of the Society for Radiological Protection*, 37(4), 883–906.

Martinot, A. J., Abbink, P., Afacan, O., Prohl, A. K., Bronson, R., Hecht, J. L., Borducchi, E. N., Larocca, R. A., Peterson, R. L., Rinaldi, W., Ferguson, M., Didier, P. J., Weiss, D., Lewis, M. G., De La Barrera, R. A., Yang, E., Warfield, S. K., & Barouch, D. H. (2018). Fetal Neuropathology in Zika Virus-Infected Pregnant Female Rhesus Monkeys. *Cell*, 173(5), 1111–1122.e10.

Mathiesen, U. L., Franzén, L. E., Aselius, H., Resjö, M., Jacobsson, L., Foberg, U., Frydén, A., & Bodemar, G. (2002). Increased liver echogenicity at ultrasound examination reflects degree of steatosis but not of fibrosis in asymptomatic patients with mild/moderate abnormalities of liver transaminases. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*, 34(7), 516–522.

Mingin, G. C., Heppner, T. J., Tykocki, N. R., Erickson, C. S., Vizzard, M. A., & Nelson, M. T. (2015). Social stress in mice induces urinary bladder overactivity and increases TRPV1 channel-dependent afferent nerve activity. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 309(6), R629–R638.

Murawski, I. J., Maina, R. W., Malo, D., Guay-Woodford, L. M., Gros, P., Fujiwara, M., Morgan, K., & Gupta, I. R. (2010). The C3H/HeJ inbred mouse is a model of vesico-ureteric reflux with a susceptibility locus on chromosome 12. *Kidney international*, 78(3), 269–278.

Murthi, Sarah & Ferguson, Mary & Sisley, Amy. (2010). *Ultrasound Physics and Equipment*. 10.1007/978-0-387-79830-1_4.

Newman, P. G., & Rozycki, G. S. (1998). The history of ultrasound. *The Surgical clinics of North America*, 78(2), 179–195.

J. Nyland, & T. Mattoon. Small Animal Diagnostic Ultrasound, 3e 3rd Edition by Mattoon DVM DACVR, John S., Nyland DVM MS, Thomas G. (2014) Hardcover (3rd ed.). (2022). Saunders.

Orenstein, B. W. (2008, December 1). Ultrasound History. *Radiology Today*, 9(24).

Padaliya, N. & Ranpariya, J. & Kumar, Dharmendra & Javia, Chirag & Barvalia, Devshi. (2015). Ultrasonographic assessment of the equine palmar tendons. *Veterinary World*. 8. 208-212. 10.14202/vetworld.2015.208-212.

Penninck, D., d'Anjou, M.-A., & Mellor, B. (2018). *Atlas of small animal ultrasonography*. Wiley Blackwell.

Potter M. (1985). History of the BALB/c family. *Current topics in microbiology and immunology*, 122, 1–5.

Racewicz, P., Sickinger, M., Włodarek, J., & Jaśkowski, J. M. (2016). Ultrasonographic diagnosis of early pregnancy in cattle using different ultrasound systems. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/Nutztiere*, 44(3), 151–156.

Ruberte, J., Carretero, A., & Navarro, M. (2017). *Morphological Mouse phenotyping: Anatomy, histology and imaging*. Médica Panamericana.

Saul, T., Siadecki, S. D., Berkowitz, R., Rose, G., Matilsky, D., & Sauler, A. (2015). M-Mode Ultrasound Applications for the Emergency Medicine Physician. *The Journal of emergency medicine*, 49(5), 686–692.

Scanlan K. A. (1991). Sonographic artifacts and their origins. *AJR. American journal of roentgenology*, 156(6), 1267–1272.

Seo, J., Kim, Ys. Ultrasound imaging and beyond: recent advances in medical ultrasound. *Biomed. Eng. Lett.* 7, 57–58 (2017).

Slaoui, M., & Fiette, L. (2011). Histopathology procedures: from tissue sampling to histopathological evaluation. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 691, 69–82.

Treuting, P. M., Arends, M., & Dintzis, S. M. (2017). Lower Gastrointestinal Tract. In P. M. Treuting, S. M. Dintzis, & K. S. Montine (Eds.), *Comparative Anatomy and Histology: a Mouse, Rat and Human Atlas* (2 ed., pp. 213-228). Elsevier Science.

Vandamme T. F. (2014). Use of rodents as models of human diseases. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 6(1), 2–9.

Wang, T., Oltra-Rodríguez, L., García-Carrillo, N., Nieto, A., Cao, Y., & Sánchez-Ferrer, M. L. (2017). Ultrasonography in Experimental Reproductive Investigations on Rats. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (130), 56038.

Ward, V. L., Estroff, J. A., Nguyen, H. T., Lakshmanan, Y., Hayward, A., Jaramillo, D., Zurakowski, D., Dunning, P. S., Peters, C. A., & Barnewolt, C. E. (2006). Fetal sheep development on ultrasound and magnetic resonance imaging: a standard for the in utero assessment of models of congenital abnormalities. *Fetal diagnosis and therapy*, 21(5), 444–457.

White, S. B., Chen, J., Gordon, A. C., Harris, K. R., Nicolai, J. R., West, D. L., & Larson, A. C. (2015). Percutaneous ultrasound guided implantation of VX2 for creation of a rabbit hepatic tumor model. *PloS one*, *10*(4), e0123888.

Wiest, P. W., Locken, J. A., Heintz, P. H., & Mettler, F. A., Jr (2002). CT scanning: a major source of radiation exposure. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, *23*(5), 402–410.

Yamanaka, M., Matsuzaki, T., & Saito, M. (1983). *Jikken dobutsu. Experimental animals*, *32*(1), 47–49.

Zagzebski, J. A. (2006). *Essentials of Ultrasound Physics*. Mosby.

