

Una técnica para la extirpación de los órganos vomeronasales en el armadillo *Chaetophractus villosus*. Abordaje desde la cavidad bucal

A surgical procedure for the ablation of the Vomeronasal Organs in the armadillo *Chaetophractus villosus*. Approach from oral cavity

Iodice, O. H., Cervino, C. O. y Affanni, J. M.: Instituto de Neurociencia, Facultad de Medicina, Universidad de Morón. Machado 714, 5to piso. (1408) Morón, Pcia. de Buenos Aires, Argentina.

Contacto: oiodice@unimoron.edu.ar

Resumen

Se describen los pasos de un procedimiento quirúrgico para la extirpación bilateral de los órganos vomeronasales del armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra). Cada órgano está ubicado en el piso de la cavidad nasal, adosado a cada lado del tabique nasal. Los órganos se abordan a través de una abertura practicada en el techo de la cavidad bucal. Este procedimiento se realiza bajo lupa estereoscópica y permite una visualización directa de los órganos. Los mismos se destruyen por medio de una fresa accionada por un torno. De este modo se tiene la certeza de una ablación total. La posterior verificación por medio de cortes histológicos no es por lo tanto necesaria. Esto representa una ventaja importante puesto que las características físicas del hueso de estos animales requieren períodos largos de ablandamiento (generalmente alrededor tres meses).

Palabras clave: armadillo | órgano vomeronasal | ablación

Abstract

A surgical procedure for the bilateral ablation of the vomeronasal organs of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra) is described. The organs are approached from the roof of the oral cavity through a longitudinal slit performed with a dental drill. This procedure is performed under magnifying stereoscopic lens and permits the direct visualization of the organs. Those structures are then destroyed with the dental drill. This provides certainty of total ablation. As a consequence, verification by means of histological sections is not needed. This represents an important advantage since the physical characteristics

Una técnica para la extirpación de los órganos vomeronasales en el armadillo *Chaetophractus villosus*. Abordaje desde la cavidad bucal

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031014.pdf>

of the bone of these animals require long periods of softening (usually around three months).

Keywords: armadillo | vomeronasal organ | ablation |

INTRODUCCIÓN

El órgano vomeronasal (OVN) es una estructura par ubicada a cada lado del septum nasal sobre el piso de la cavidad nasal. Cada órgano del par posee una estructura cilíndrica, con una extremidad anterior abierta hacia el exterior mientras que su extremo caudal termina en fondo de saco ciego.

El OVN es objeto de creciente atención por parte de los fisiólogos en razón del importante papel que desempeñan en la reproducción y alimentación de ciertos mamíferos (Estes, 1972; Winans y Powers, 1977; Beauchamps y col., 1982; Wysocki y col., 1983; Kudjakova y col., 2007; Martel y Baum, 2007; Thompson y col., 2007). Affanni y Cervino (2004) demostraron que la ablación de los OVN provoca un dramático cambio en la expresión electrofisiológica del sueño paradójico del armadillo *Chaetophractus villosus*. Los mencionados órganos son el punto de partida de importantes aferencias cerebrales. Estudios realizados por Scalia y Winans (1975) en conejo, opossum y rata demostraron aferencias del OVN hacia en el núcleo amigdalino medial, la región preóptica hipotalámica y la parte posteromedial del núcleo amigdalino cortical. Conexiones con la amígdala fueron también demostradas por Mohedano-Moriano y col. (2007).

Para averiguar la función del OVN se ha recurrido a la sección de los nervios vomeronasales en su trayecto intracraneal o nasal (Matthes, 1932; Planel, 1953; Winans y Powers, 1977). El inconveniente de estos procedimientos es que pueden dañar otras estructuras nerviosas además de de los nervios vomeronasales (bulbo olfatorio, ramas del nervio terminal, trigémino y órgano septal). Por este motivo otros autores recurrieron a la extirpación del órgano. En este sentido merecen destacarse, las técnicas desarrollada por Vaccarezza y col. (1979). Éstos autores desarrollaron dos técnicas para la rata por medio de lesiones electrolíticas o térmicas utilizando dos vías de abordaje a saber: a) un vía superior que introduce electrodos para lesiones electrolíticas a través de las fosas nasales y b) una vía inferior que lesiona a los órganos con termocauterío a través de una abertura practicada por vía bucal en el hueso maxilar.

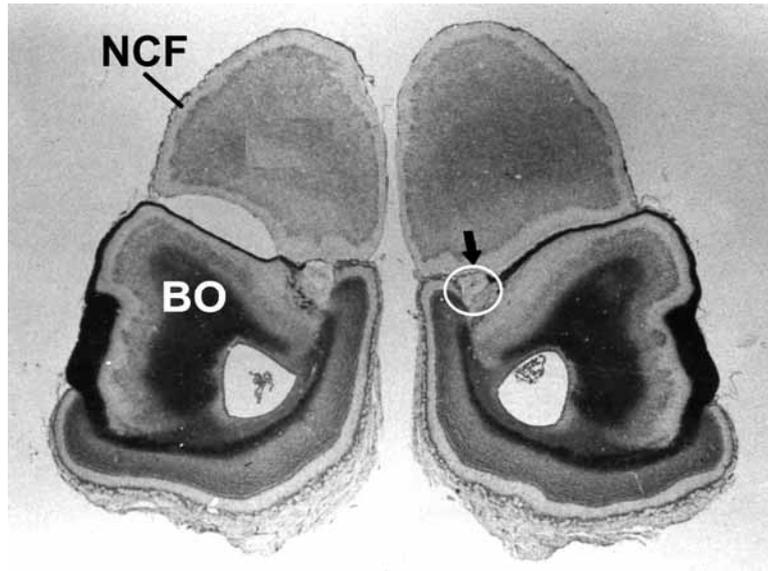
A pesar del considerable número de trabajos realizados, queda mucho por averiguar sobre la función del OVN. Al respecto, cabe señalar que extender las investigaciones a otras especies puede suministrar datos que contribuyan a

2
Una técnica para la extirpación de los órganos vomeronasales en el armadillo *Chaetophractus villosus*. Abordaje desde la cavidad bucal

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031014.pdf>

profundizar el conocimiento del órgano. En este sentido, el armadillo *C. villosus* aparece como un excelente modelo para este tipo de estudios en razón del considerable tamaño de los OVN y de su bien definido y conspicuo bulbo olfatorio accesorio que constituye el primer núcleo de relevo de las fibras del nervio vomeronasal (Fig. 1). Su gran resistencia a las intervenciones quirúrgicas complejas (algo que no sucede, por ejemplo, con *Dasypus hybridus* o con *D. novencinctus*) es otra característica importante. Usufructuando esas propiedades, hemos desarrollado una técnica que permite extirpar fácilmente los OVN de *C. villosus*. La misma permitirá emprender futuros estudios sobre su papel funcional.

Figura 1. Corte vértico-transversal de los bulbos olfatorios en *Chaetophractus villosus*. La flecha señala el bulbo olfatorio accesorio. **BO**, bulbo olfatorio principal; **NCF**, neocortex frontal.



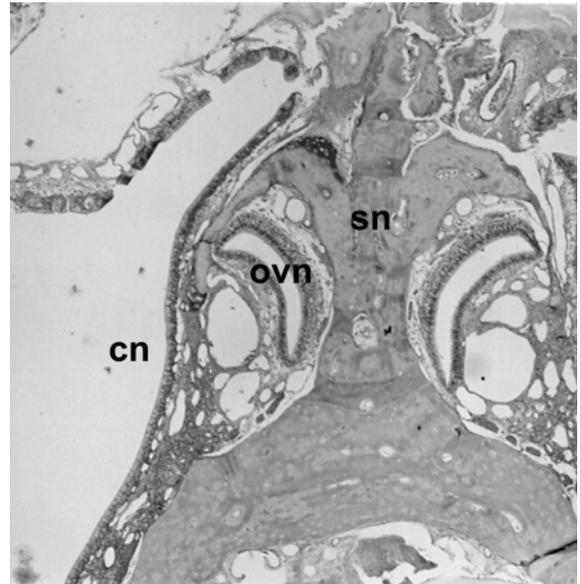
MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ejemplares de *C. villosus* (Mammalia, Dasypodidae, Xenarthra), denominados vulgarmente en Argentina "peludos".

Los ejemplares provinieron de la Colonia de armadillos y marsupiales del Instituto de Neurociencia. Factores como condiciones de cautividad, tipos de jaulas utilizadas, alimentación y cuidados generales, ya fueron publicados por nosotros (Iodice, 1986, Iodice y Affanni, 1988).

Como paso preliminar se prepararon 10 cabezas de animales formalizados por perfusión a través de la aorta, de formol al 10% en solución fisiológica. En estas cabezas se abrieron las paredes dorsales y laterales de las fosas nasales y se individualizó cada OVN al mismo tiempo que se adquirió experiencia visual de su morfología. A continuación se determinó la proyección de los OVN sobre la mucosa palatina. Estos órganos aparecen como dos gruesos tubos cilíndricos de 10 - 15 mm de longitud situados a ambos lados del borde inferior del septum nasal (Fig. 2).

Figura 2. Corte transversal de la región de nasal (cn, cavidad nasal) de *Chaetophractus villosus*, donde puede observarse el septum nasal (sn) y los dos órganos vomeronasales (ovn)



Realizada esta tarea preliminar, se procedió de acuerdo con los siguientes tiempos quirúrgicos:

1. Tiempo Anestésico:

- Se utilizó clorhidrato de ketamina a una dosis de 50 mg/kg, combinado con xylacina a dosis de 3 mg/kg, diazepam a dosis 10 mg/kg y sulfato de atropina a dosis de 0,1 mg/kg vía intramuscular.

2. Tiempo de Diéresis:

- Se ubicó el animal en el aparato estereotáxico para armadillos construido *ad-hoc* por David Koppf Inc. New York (Fig. 3). Se rotó el mismo de modo que quedase en decúbito dorsal.

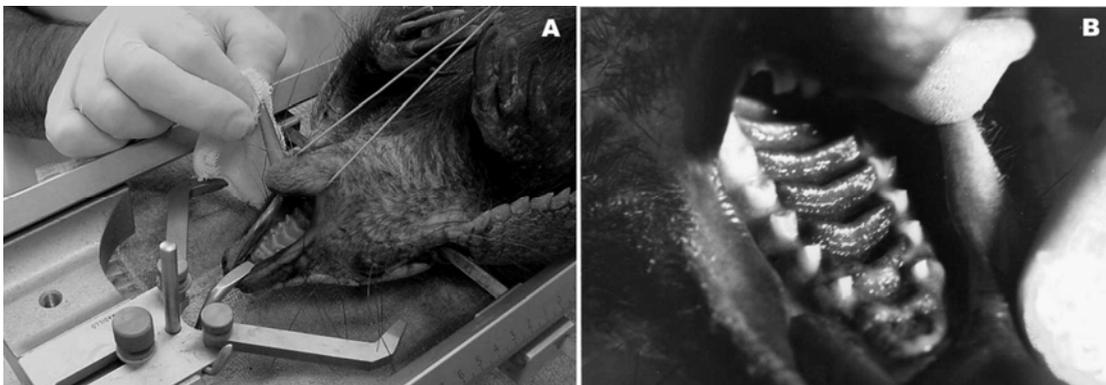


Figura 3. El armadillo en el aparato estereotáxico, construido por David Koppf (New York). **A.** El aparato estereotáxico ha sido girado 180° de modo que el animal quedase en decúbito dorsal. Notar que el ayudante del experimentador, con una mano desvía la lengua hacia un costado y con un hilo separa el maxilar inferior para mantener la boca abierta. **B.** Vista del techo de la boca en la que puede observarse la mucosa palatina.

- Se procedió a la abertura de la boca tirando hacia arriba el maxilar inferior por medio de un hilo atado al mismo (Fig. 3A).

Una técnica para la extirpación de los órganos vomeronasales en el armadillo *Chaetophractus villosus*. Abordaje desde la cavidad bucal

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031014.pdf>

- Un ayudante mantuvo lateralizada la lengua para no hierla durante procedimiento quirúrgico. Para este fin la cogió con los dedos por medio de una gasa.
- Se ubicó el techo de la boca dentro del campo visual de una lupa estereoscópica (Fig. 3B).
- Se realizó la incisión con bisturí de la mucosa bucal cuyos bordes se separaron con ganchos atados a un hilo.
- Se procedió al legrado del hueso maxilar.
- Se practicó un orificio rectangular, en el hueso maxilar de 4 mm de ancho y 15 de largo (Fig. 4A)

3. Tiempo de exéresis:

- Se identificó el borde inferior del septum nasal y de los OVN.
- Se pinzaron los extremos de cada órgano con fórceps de cirugía ocular.
- Se extrajo cada órgano mediante corte con una tijera curva de cirugía ocular.
- Se verificó bajo lupa la integridad del órgano extirpado.

4. Tiempo de síntesis:

- Se procedió al cierre conacrílico dental de la abertura ósea (Fig. 4B).
- Se suturó la mucosa bucal con aguja atraumática e hilo monofilamento 3/0 (Fig. 4C).

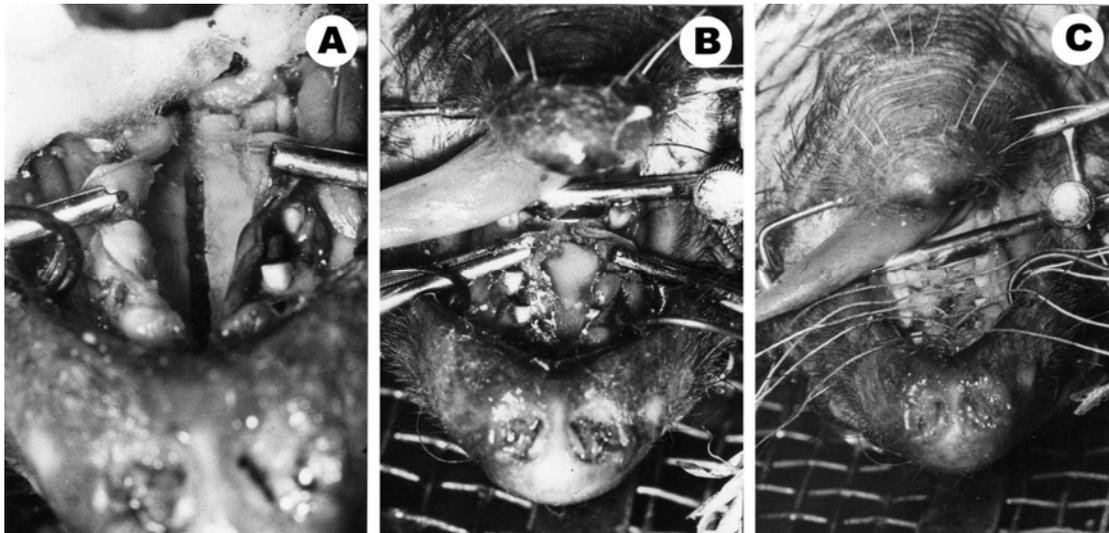


Figura 4. Pasos de la cirugía de extirpación del órgano vomeronasal. **A.** Vista del paladar óseo donde se ha practicado el orificio rectangular. **B.** Vista en la que puede observarse el orificio obturado conacrílico. **C.** Sutura de la mucosa nasal. Para esta figura no se utilizó el tipo de hilo descrito en Materiales y Métodos.

5. Lavado post-quirúrgico:

- Como durante el procedimiento quirúrgico se derrama una buena cantidad de sangre que entra en las fosas nasales y se coagula, aconsejamos dejar pasar una hora y luego eliminar los coágulos mediante lavado con solución fisiológica tibia. Para este último paso se debe colocar al animal en decúbito ventral en un plano inclinado caudo-oral. A continuación se aproxima una cánula curvada en uno de sus extremos (Fig. 5) que se engancha en las coanas y a través de la cual se hace pasar la solución fisiológica que fluirá por los orificios nasales.

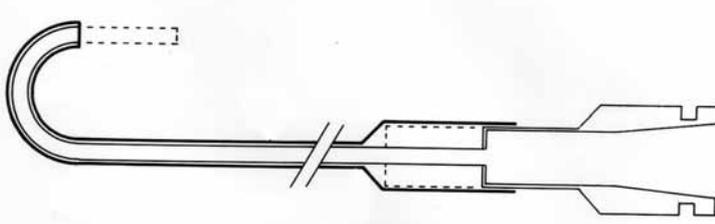


Figura 5. Cánula de metal curvada en uno de sus extremos para la instilación de fluidos por las cavidades nasales.

Deseamos señalar que ese lavado no debe realizarse nunca introduciendo cánulas en los orificios nasales pues éstos se encuentran erizados de unas complejas formaciones (Fig. 6) (Affanni y col., 1982, 1986, 1987) que pueden ser lesionadas por el procedimiento. Estas formaciones juegan un importante papel al impedir que partículas de tierra entren en las fosas nasales cuando estos animales cavan (son poderosísimos cavadores).



Figura 6. Vista la cavidad nasal después de extraer la pared lateral de la fosa nasal. Se pueden observar las complejas formaciones nasales que operan como filtro para las partículas de tierra.

6. Cuidados post-quirúrgicos:

- Luego de la intervención se administró como terapia antibiótica y antiinflamatoria enrofloxacina al 5 % a dosis de 10 mg/kg combinada con bencidamina a dosis de 10 mg/kg por vía intramuscular cada 24 horas durante 5 días.

Al finalizar la intervención, los ejemplares utilizados fueron anestesiados y se procedió a la perfusión por vía cardíaca con soluciones fijadoras, para el posterior estudio de las muestras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con esta técnica los animales aparecieron en muy buen estado ya desde el mismo día de la operación y fueron capaces de respirar por la nariz. Las estructuras receptoras olfatorias permanecieron conservadas. Esto quedó demostrado por: 1) el estudio histológico de la mucosa nasal que reveló ausencia de lesiones. 2) la presencia de todos los tipos de actividad (actividad sinusoidal inducida, intrínseca, lenta de Ottoson y rhino-central (Affanni y Cervino, 2005) que fueron descritos en este animal. Los mismos continuaron presentes aun después de un mes de realizada la operación (Fig. 7).

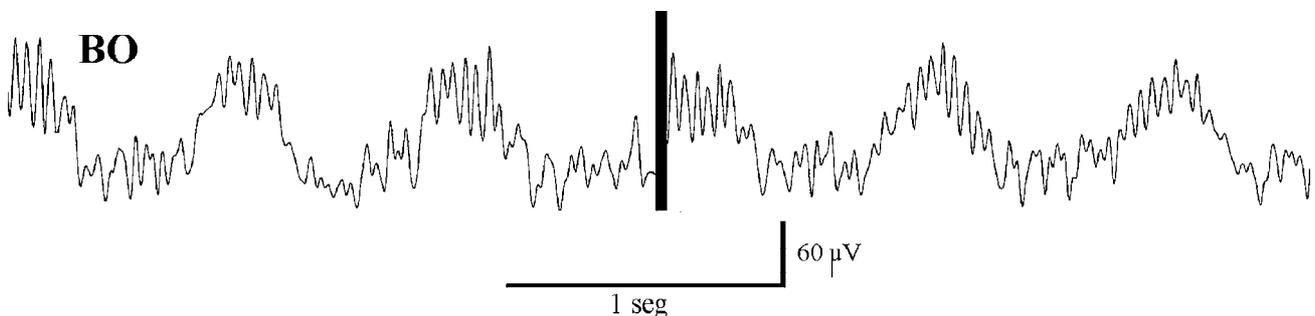


Figura 7. Actividad eléctrica de los bulbos olfatorios durante la vigilia antes (izquierda) y después (derecha) de un mes de haber extirpado los órganos vomeronasales. Esto demuestra que el aparato olfatorio principal permanece funcionando.

La ventaja de esta técnica de ablación reside en que suministra la certeza de la remoción total del órgano. Cualquier verificación de la ausencia del mismo puede realizarse macroscópicamente en razón de su considerable tamaño. En el armadillo no hace falta pues, la verificación histológica de la extirpación. Esta podría realizarse sin mayores inconvenientes pero debe tenerse en cuenta que los huesos de esta especie de armadillo son extraordinariamente duros y de consistencia ebúrnea. Esto hace que las técnicas corrientes de descalcificación

tardan aproximadamente tres meses en surtir efecto. Se retarda así notablemente el proceso de diagnóstico. En resumen, nuestra técnica ofrece un método rápido y seguro para la extirpación del OVN y la verificación anatómica de la misma.

Queda así abierta la posibilidad de una investigación sistemática sobre el papel biológico del mencionado órgano en esta especie de armadillo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Affanni, J. M., García Samartino, L., Casanave E., Florin-Christensen, J. Fenómenos fisiológicos observados durante el enterramiento. *Acta Physiol. Latinoam.*, 1982, vol. 32, p. 78-79.
2. Affanni, J. M., Garcia Samartino. L, Casanave, E. B., Dezi, R. Absence of apnea in armadillos covered by soil. *Respiration Physiology.*, 1987, vol. 67, p. 239-245.
3. Affanni, J. M., Casanave, E. B., García Samartino, L., Ferrari, R. Neocortical and olfactory bulb activity in armadillos submitted to covering by soil. *Arch. Internat. Physiol. Biochem.*, 1986, vol. 94, p. 273-279.
4. Affanni, J. M., Cervino, C. O. Influencia de la desafrentación olfatoria periférica, de la ablación de los órganos vomeronasales y de la eliminación simultánea de ambos sistemas sobre la actividad eléctrica del sistema olfatorio principal durante la vigilia y el sueño. *Actas de Fisiología (Uruguay)*, 2004, vol. 9, p. 42.
5. Affanni, J. M., Cervino C. Interactions between Wakefulness, Sleep and the Olfactory System. En Parmeggiani, P. L., Velluti R., (dir.), *The physiologic nature of sleep*. London (UK): Imperial College Press, 2005, pp. 571-599.
6. Beauchamp, G. K., Martin, I. G., Wysocki, C. J., Wellington, J. L. The investigatory and sexual behavior of male guinea pigs following vomeronasal organ removal. *Physiol. Behav.*, 1982, vol. 29, p. 329-326.
7. Estes, R. The role of the vomeronasal organ in mammalian reproduction. *Mammalia*, 1972, vol. 36, p. 315-341.
8. Iodice, O. H. On the importance of armadillos and marsupials in biomedical research. Their maintenance and reproduction in laboratory conditions. *Actas del Regional / International Meeting on Laboratory Animals. ICLAS-CEMIB-FESBE*, Aguas de Lindia (Brasil), 1986. pp. 292-301.
9. Iodice, O. H., Affanni, J. M. *Animales de laboratorio no tradicionales. Mantenimiento y reproducción en condiciones de bioterio del género Chaetophractus (Xenarthra = Edentata, Dasypodidae)*. *Actas del VI Congr. Arg. de Cs. Veterinarias*, Buenos Aires, 1988.
10. Kudjakova, T.I., Sarycheva, N. Y., Kamensky, A. A. Characteristics of exploratory behavior and the level of uneasiness of white nonpurebred rats

- after extirpation of the vomeronasal organ (VNO). *Dokl. Biol. Sci.*, 2007, vol. 41, p. 208-211.
11. Martel, K. L., Baum, M. J. Sexually dimorphic activation of the accessory, but not the main, olfactory bulb in mice by urinary volatiles. *Eur. J Neurosci.*, 2007, vol. 26, n° 2, p. 463-475.
 12. Matthes, E. Weitere geruchsdressuren an neerschweinchen. *Z. vergl. Physiol.*, 1932, vol. 17, p. 464-490.
 13. Mihalkovics, V. Nassenhuhle und Jacobsonsches organ. *Anat. Hefte.*, 1898, vol. 11, p. 1-1070.
 14. Mohedano-Moriano, A., Pro-Sistiaga, P., Ubeda-Banon, I., Crespo, C., Insausti, R., Martínez-Marcos, A. Segregated pathways to the vomeronasal amygdala: differential projections from the anterior and posterior divisions of the accessory olfactory bulb. *Eur. J Neurosci.*, 2007, vol. 25, n° 7, p. 2065-2080.
 15. Planel, H. Etudes sur la physiologie de l'organe de Jacobson. *Archs. Anat. Histol. Embryol.*, 1953, vol. 36, p. 199-205.
 16. Scalia, F., Winans, S. S. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. *J. Comp. Neur.*, 1975, vol. 161, p. 31-56.
 17. Thompson, R.N., Napier, A., Wekesa, K. S. Chemosensory cues from the lacrimal and preputial glands stimulate production of IP3 in the vomeronasal organ and aggression in male mice. *Physiol. Behav.*, 2007, vol. 90, n° 5, p. 797-802.
 18. Vaccarezza, O. L., Reguero, M., Berra, M., Tramezzani, J. H. Techniques for the lesion of the vomeronasal organ of the rat. *Acta Physiol. Latinoam.*, 1979, vol. 29, p. 95-99.
 19. Winans, S. S., Powers, J. B. Olfactory and vomeronasal desafferentation of male hamsters: histological and behavioral analysis. *Brain Res.*, 1977, vol. 126, p. 325-340.
 20. Wysocki, C. J., Katz, Y., Bernhard, R. Male vomeronasal organ mediates female-induced testosterone surges in mice. *Biol. Reprod.*, 1983, vol. 28, p. 917-922.

Reseña Curricular de los Autores



IODICE, Omar Héctor.

- Médico Veterinario.
- Argentino, nacido en Buenos Aires.
- Egresado de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires (UBA).
- Ex Docente de la Cátedra de Fisiología Animal Comparada. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.
- Docente Adscripto de la cátedra de Fisiología. Universidad de Morón (UM). Provincia de Buenos Aires.

Una técnica para la extirpación de los órganos vomeronasales en el armadillo *Chaetophractus villosus*. Abordaje desde la cavidad bucal

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031014.pdf>

- Miembro del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) como Profesional Principal en la Carrera de Apoyo a la Investigación.
- Veterinario de la Colonia de Armadillos y Marsupiales del Instituto de Neurociencia (INEUCI – CONICET), 1982 – 2002.
- Veterinario del Bioterio Central de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA, 2002 – 2003.
- Publicación de varios trabajos y dictado de numerosas conferencias sobre:
 - Nuevos modelos en experimentación biomédica, y
 - Armadillos y Zari güeyas como modelos experimentales.
- Profesor Invitado al Curso sobre Animales de Laboratorio (según programa Federación de Asociaciones de Ciencia de Animales de Laboratorio de Europa). Bioterio Central. Fac. Cs. Ex. y Naturales. UBA. 1998 – 2009.



AFFANNI, Jorge Mario.

- Médico. Obtuvo el título de Doctor en Medicina en la Universidad de Buenos Aires.
- Realizó su formación como neurofisiólogo en el Instituto de Fisiología de la Universidad de Pisa, Italia, bajo la dirección de G. Moruzzi.
- Completó esa formación en Cambridge, UK (Ed Adrian), Estocolmo, Lyon-Paris, Bruselas y Oxford.
- Actualmente es Investigador Superior del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnica de Argentina.
- Ex Profesor Titular de Fisiología Comparada de la Universidad de Buenos Aires.
- Ex Vicepresidente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnica. Ex Miembro de su Directorio.
- Ex Director del Instituto de Neurociencia de la Universidad de Buenos Aires.
- Actual Director del Instituto de Neurociencia de la Facultad de Medicina de la Universidad de Morón (Buenos Aires, Argentina).
- Es autor de varios libros sobre su especialidad.
- Es autor de más de un centenar de trabajos muchos de los cuales se refieren a Fisiología, Anatomía e Histología de mamíferos sudamericanos.



CERVINO, Claudio Osvaldo.

Dr. en Ciencias Biológicas (Universidad de Buenos Aires – Argentina).

- Orientación Fisiología – Suborientación Neurofisiología.
- Ex Docente de la Cátedra de Fisiología Animal Comparada. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. UBA.
- Profesor Asociado Regular de Fisiología (Facultad de Medicina – Universidad de Morón – Argentina).
- Profesor Titular de Fisiología Animal Comparada y de Etología (Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales – Universidad de Morón – Argentina).
- Ha publicado libros, trabajos científicos y capítulos en libros de edición internacional en Fisiología, Neurofisiología y Biomedicina.
- Profesor Invitado al Laboratorio de Biofluidos (Charite Facultad de Medicina – Universidad Humboldt de Berlín – Alemania).
- Premio “PROF. DR. EDUARDO DE ROBERTIS”, al mejor trabajo de Neurociencia Básica (Buenos Aires, Argentina – 1999). Trabajo presentado: “*Nuevo ritmo alfa y actividad gamma en los bulbos olfatorios de un armadillo sudamericano: cuantificación y perspectivas futuras*”.

REDVET: 2010, Vol. 11 N° 03

Recibido: 11.08.2009 – Ref. prov. JUL0920 – Revisado: 10.10.2009 - Aceptado: 15.12.2009

Ref. def. 031014_RED VET - Publicado: 01.03.2010

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031014.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>