

### DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN BIOMEDICINA

Morfología del cráneo de la iguana verde (*Iguana iguana*), iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), y tortuga boba (*Caretta caretta*). Enfoque comparativo mediante técnicas de diagnóstico por imagen avanzadas y secciones anatómicas

Skull morphology of the green iguana (*Iguana iguana*), rhinoceros iguana (*Cyclura cornuta cornuta*), and loggerhead turtle (*Caretta caretta*). Comparative approach using advanced imaging techniques and gross-sections.

# ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

## **TESIS DOCTORAL CON MENCIÓN INTERNACIONAL**

Las Palmas de Gran Canaria, marzo de 2024

[Página en blanco]

[Página en blanco]



## **TESIS DOCTORAL**

Morfología del cráneo de la iguana verde (*Iguana iguana*), iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), y tortuga boba (*Caretta caretta*). Enfoque comparativo mediante técnicas de diagnóstico por imagen avanzadas y secciones anatómicas

Skull morphology of the green iguana (*Iguana iguana*), rhinoceros iguana (*Cyclura cornuta cornuta*), and loggerhead turtle (*Caretta caretta*). Comparative approach using advanced imaging techniques and grosssections.

## ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

## DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN BIOMEDICINA

## **TESIS DOCTORAL CON MENCIÓN INTERNACIONAL**

Arucas, marzo 2024



Morfología del cráneo de la iguana verde (*Iguana iguana*), iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), y tortuga boba (*Caretta caretta*). Enfoque comparativo mediante técnicas de diagnóstico por imagen avanzadas y secciones anatómicas

Skull morphology of the green iguana (*Iguana iguana*), rhinoceros iguana
 (*Cyclura cornuta cornuta*), and loggerhead turtle (*Caretta caretta*).
 Comparative approach using advanced imaging techniques and gross sections.

ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN BIOMEDICINA

TESIS DOCTORAL CON MENCIÓN INTERNACIONAL

LA DOCTORANDA

EL DIRECTOR

EL CODIRECTOR

Arucas, marzo de 2024

**Título en inglés:** Skull morphology of the green iguana (*Iguana iguana*), rhinoceros iguana (*Cyclura cornuta cornuta*), and loggerhead turtle (*Caretta caretta*). Comparative approach using advanced imaging techniques and gross-sections.

Línea de investigación: Anatomía comparada.

Programa de Doctorado: Investigación en Biomedicina.

Departmento: Morfología.

Facultad: Veterinaria.

Universidad: Las Palmas de Gran Canaria.

Curso académico: 2023-2024.

Tutor: Morales Doreste, Manuel Francisco.

Directores: Jaber Mohamad, José Raduan and Encinoso Quintana, Mario Óscar.



JOSÉ RADUAN JABER MOHAMAD, Doctor en Veterinaria, Profesor Titular de Universidad del área de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas del Departamento de Morfología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria

#### INFORMA

Que Doña ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, Graduada en Veterinaria, ha realizado, bajo mi dirección y asesoramiento, el presente trabajo de Tesis Doctoral con Mención Internacional titulado: MORFOLOGÍA DEL CRÁNEO DE LA IGUANA VERDE (*Iguana iguana*), IGUANA RINOCERONTE (*Cyclura cornuta cornuta*), Y TORTUGA BOBA (*Caretta caretta*). ENFOQUE COMPARATIVO MEDIANTE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEN AVANZADAS Y CORTES MACROSCÓPICOS. (*SKULL MORPHOLOGY OF THE GREEN IGUANA* (*Iguana iguana*), *RHINOCEROS IGUANA* (*Cyclura cornuta cornuta*), *AND LOGGERHEAD TURTLE* (*Caretta caretta*). *COMPARATIVE APPROACH USING ADVANCED IMAGING TECHNIQUES AND GROSS-SECTIONS*), que considero reúne las condiciones reglamentarias y de calidad científica necesarias para su presentación y defensa para optar al título de Doctora por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Y para que conste, a los efectos oportunos, firmo digitalmente en Las Palmas de Gran Canaria el presente informe a la fecha incluida en la firma.

> JABER MOHAMAD JOSE RADUAN Firmado digitalmente por JABER MOHAMAD JOSE RADUAN Fecha: 2024



MARIO ENCINOSO QUINTANA, Doctor en Veterinaria, Responsable del Servicio de Diagnóstico por Imagen del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria

#### INFORMA

Que Doña ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, Graduada en Veterinaria, ha realizado, bajo mi dirección y asesoramiento, el presente trabajo de Tesis Doctoral con Mención Internacional titulado: MORFOLOGÍA DEL CRÁNEO DE LA IGUANA VERDE (*Iguana iguana*), IGUANA RINOCERONTE (*Cyclura cornuta cornuta*), Y TORTUGA BOBA (*Caretta caretta*). ENFOQUE COMPARATIVO MEDIANTE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEN AVANZADAS Y CORTES MACROSCÓPICOS. (*SKULL MORPHOLOGY OF THE GREEN IGUANA* (*Iguana iguana*), *RHINOCEROS IGUANA* (*Cyclura cornuta cornuta*), *AND LOGGERHEAD TURTLE* (*Caretta caretta*). *COMPARATIVE APPROACH USING ADVANCED IMAGING TECHNIQUES AND GROSS-SECTIONS*), que considero reúne las condiciones reglamentarias y de calidad científica necesarias para su presentación y defensa para optar al título de Doctora por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Y para que conste, a los efectos oportunos, firmo digitalmente en Las Palmas de Gran Canaria el presente informe a la fecha incluida en la firma.

ENCINOSO QUINTANA MARIO OSCAR -

Fecha: 2024



Periodo di mobilità / Mobility period Durata prevista / Expected duration: 4 Months Campus : Bologna Data inizio mobilità (gg/mm/aaaa) / Mobility start date (dd/mm/yyyy): 01/09/2022 Data fine mobilità (gg/mm/aaaa) / Mobility end date (dd/mm/yyyy): 16/12/2022

I hereby inform that the PhD student ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, has carried out a stay in our SDIMM (Diagnostic Imaging Service) under our supervision.

During this four-month training period, the student became familiar with conventional (X-rays, ultrasound) and advanced (CT) imaging techniques, where, as far as possible, she was able to exercise in the diagnosis of possible pathologies with the main objective of improving in daily clinical practice and studying the anatomical organization of the main species of companion animals.

The skills acquired and the progress made were evaluated periodically (every 2 weeks) through the discussion of clinical cases and the analysis of diagnostic images with the SDIMM staff.

At the end of the internship, the student has become familiar with computed tomography (CT), X-rays and ultrasound, indispensable tools for veterinary clinicians seeking an accurate diagnosis for their various patients, as was proposed at the time of her acceptance as a trainee. The high number of hours applied on her part (600 hours), as well as the high number of case studies performed during the agreed period has allowed her to improve imaging protocols and better understand small animal diseases.

I hereby sign this report in Bologna on 18th May 2023.

Professor Mario Cipone Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie

<b>I</b> NFORME EXPERTO EXTERNO EXTERNAL REFEREE REPORT		
Nombre del experto: Name of the referee:	Prof Simon L Priestnall	
Categoría: Position:	Head of Dept and Professor of Veterinary Anatomic Pathology	
Departamento, Universidad, Organismo de adscripción: Department, University or Organism of adscription:	Pathobiology & Population Sciences	
Doctor por la Universidad de: Doctor by the University of:	The Royal Veterinary College, University of London	
Año de defensa de la tesis doctoral: Year of the Doctoral Thesis Defense:	2024	

Título de la tesis:	Morfología del cráneo de la iguana verde (Iguana iguana), iguana rinoceronte (Cyclura cornuta cornuta), y tortuga boba (Caretta caretta). Enfoque comparativo mediante técnicas de diagnóstico por imagen avanzadas y secciones anatómicas
Title of the thesis:	Skull morphology of the green iguana (Iguana iguana), rhinoceros iguana (Cyclura cornuta cornuta), and loggerhead turtle (Caretta caretta). Comparative approach using advanced imaging techniques and gross-sections
Nombre del doctorando/a que presenta la tesis: Name of the PhD student:	ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

**1.** Especificar los motivos que avalan la calidad de la tesis mencionada para sudefensa pública en relación a los siguientes aspectos: / Specify reasons endorsing the quality of the above-mentioned thesis for its public reading with respect to:

#### **1.1** Objetivos / *Objectives*:

This PhD thesis aims to provide greater and more detailed understanding of the grossanatomical morphology of the head of three endangered reptiles. This is based on both gross dissection and correlation with CT imaging findings.

The objectives are clear and the outcomes add significant data to our knowledge of these species which are increasingly recognised in captive breeding programmes as well as in the wild.

#### **1.2** Originalidad del trabajo / Originality of the work:

As far as I can establish this work is both novel and original in its objectives and findings. Few have the ability to carefully dissect the heads of these species and correlate with advanced imaging findings. The originality is recognized in the publications to date.

- **1.4 Antecedentes y bibliografía** *I* **Background and references:** The candidate provides the reader with a comprehensive introduction to the anatomy of the considered species and on the techniques applied in diagnostic imaging. There is an exhaustive list of references, directly relevant to the work described in the thesis, is also included and will be an important source of information.
- 2. Valoración absoluta y/o ponderada de la tesis presentada en comparación con otros trabajos de investigación en su campo / Absolute and/or relative assessment of the thesis in comparison with other research works in the same field:

The work described in this thesis makes a significant contribution to the knowledge of imaging for the three species *Iguana iguana, Cyclura cornuta cornuta,* and *Caretta caretta.* Particularly, it enhances understanding in comparative anatomy and aids in diagnosing diseases affecting these species. The work is of a high standard and is valuable for those studying or treating these species.

3. ¿Considera que la tesis anteriormente mencionada es apta para su lectura y defensa pública? / Considering all the above, is the thesis judged to be suitable for public presentation?

YES

17th February 2024

Firma y fecha Signature and date

INFORME EXPERTO EXTERNO		
EXTERNAL REFEREE REPORT		
Nombre del experto: Name of the referee:	Alessia Diana	
Categoría:	Full professor of Veterinary Diagnostic	
Position:	Imaging	
Departamento, Universidad, Organismo de		
adscripción:	Department of Veterinary Medical	
Department, University or Organism of	Sciences – University of Bologna	
adscription:		
Doctor por la Universidad de:	University of Bologna	
Doctor by the University of	, <u> </u>	
Ano de defensa de la tesis doctoral: Year of the Doctoral Thesis Defense:	2002	

Título de la tesis:	Morfología del cráneo de la iguana verde
	(Iguana iguana), iguana rinoceronte (Cyclura
	cornuta cornuta), y tortuga boba (Caretta
	caretta). Enfoque comparativo mediante técnicas
	de diagnóstico por imagen avanzadas y
	secciones anatómicas
Title of the thesis:	Skull morphology of the green iguana (Iguana
	iguana), rhinoceros iguana (Cyclura cornuta
	cornuta), and loggerhead turtle (Caretta caretta).
	Comparative approach using advanced imaging
	techniques and grosssections
Nombre del doctorando/a que presenta la tesis: Name of the PhD student:	ELIGIA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

# 1. Especificar los motivos que avalan la calidad de la tesis mencionada para su defensa pública en relación a los siguientes aspectos: / Specify reasons endorsing the quality of the above-mentioned thesis for its public reading with respect to:

#### 1.1 Objetivos / Objectives:

The study is well-executed and addresses a topic for which available data are very limited, providing important and useful reference values.

#### **1.2** Originalidad del trabajo / Originality of the work:

The work described is highly original and significantly contributes to the knowledge in the field

#### 1.3 Metodología / Methodology:

The methods used in this thesis are entirely appropriate and wellestablished in the field. A range of imaging techniques, including radiography, ultrasonography, computed tomography, and magnetic resonance, are described, applied, and discussed.

#### 1.3 Metodología / Methodology:

Various techniques are employed including gross dissection and advanced imaging, both under the guidance of experts in their fields. All methods appear appropriate and as expected for a study of this importance. The images are of a very high standard and complement the gross morphology with the imaging correlates.

#### **1.4** Antecedentes y bibliografía / Background and references:

The work is well presented with a clear background, outlining the need to examine more in depth the anatomy of these endanged species and the references are broad and appropriate.

**2.** Valoración absoluta y/o ponderada de la tesis presentada en comparacióncon otros trabajos de investigación en su campo / Absolute and/or relative assessment of the thesis in comparison with other research works in the same field:

**3.** ¿Considera que la tesis anteriormente mencionada es apta para su lecturay defensa pública? / Considering all the above, is the thesis judged to be suitable for public presentation?

Yes

Signature and date

18/1/2024

A mi aliento y apoyo en esta carrera de obstáculos; mis aliados incondicionales, Mamá, Papá y Óscar. Va por ustedes. Quiero empezar dando las gracias, en primer lugar, a mis Directores, los Doctores **José Raduan Jaber Mohamad** y **Mario Encinoso Quintana**, sin los cuales esta Tesis no habría sido posible. Al Director del programa de doctorado, el Profesor **Alberto Montoya Alonso**, por el apoyo, la dedicación y el aliento para que este proyecto se llevase a término de la mejor manera posible. A mi Tutor, **Manuel Morales Doreste** que, en su condición de Director del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC, ha favorecido el uso de las instalaciones para el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

Gracias a mi **Madre**, por contagiarme su coraje, valentía, tenacidad y siempre apoyarme en todos los pasos que he dado a lo largo de estos 27 años desde el primero. A mi **Padre**, mi ejemplo a seguir, por enseñarme a bordear y a entender las piedras del camino con su paciencia infinita y conocimiento. A mi **Hermano**, por arrancarme la melancolía a golpe de carcajada. Han sido muchas las ocasiones en las que lo he necesitado sin saberlo.

A mi gata Aura, por ser libre de elegirme.

Sí, **Lolina**, **Tita** y **Abuela**: ¡YA SOY DOCTORA! Gracias por la devoción y amor leal que nos regalan cada día.

A mis tíos, **Baldín** y **Carmen**. A mi prima **Carmen Dolores** y a **Corilla**. Por su confianza y apoyo.

A mis amigos, *"Los Reales"*. **Alba**, **Néstor**, **Maka**, **Gabri**, **Laura**, **Aram** y **Dara**. Gracias por estar siempre al frente de todas las batallas. A **Zule**, mis descansos y no tan descansos. Por los cafés y las amanecidas. A **Elena**, por los abrazos, las horas de sala de estudio y el optimismo, exacerbado en ocasiones, pero siempre bienvenido. A mi **Marquitos**. Gracias por ser compañero de despropósitos, mi familia lejos de casa y saber transmitirme el calor de un hogar en un abrazo en la fría Emilia-Romagna.

Al "Servizio di Diagnostica per Immagini" (SDIMM), per avermi accolto, insegnato e valorizzato. Al **Prof. Mario Cipone** e alla **Prof.ssa Alessia Diana** per l'apprendimento continuo in quei quattro mesi. Agli interni veterinari: **Giacomo Tamburini, Chiara Achili, Micaela Magnani, Benedetta Zibordi.** Ai veterinari senior: **Nikolina Linta** e **Simone Perfetti**. Al **Prof. Bettini** per la Sua disponibilità. Grazie mille. Spero di tornare presto.

A todos aquellos profesores de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC que estuvieron pendientes del proceso. Gracias en especial a Jaime Espinosa García San Román, Begoña Acosta Hernández e Inmaculada Rosario Medina, por esas charlas que fueron terapéuticas. Al Profesor Alberto Arencibia Espinosa, quien desde mi primer año de carrera, me inspiró su pasión por la anatomía y me animó a seguir aprendiendo.

Al **Dr**. **Kevin M. Santana Hernández**, gracias por los consejos y conocimiento que ayudaron a arrojar luz en todo esto.

A los cafés de Loli y Nuha.

En definitiva, GRACIAS DE CORAZÓN a todos los que, a su manera, han tenido algo que ver en el proceso.

ABREVIACIONES Y CONSIDERACIONES TERMINOLÓGICAS	
INTRODUCCIÓN	
OBJETIVOS	
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
Evolución y situación actual de los reptiles	
Anatomía	1
Orden Testudines	
Orden Squamata	1
TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEN PARA EL ESTUDIO ANAT	ΓΌΜΙCΟ Υ ΡΑΤΟLÓGICO
DE REPTILES	ا∠۲
Drincipios físicos	ے۲
Principios físicos	2 ר
Padiografía Digital	∠۲
Vantaias a Inconvenientes	22
Padiografía on Pontilos	22
Radiografía en Ouelonios	2
Radiografía en Lagartos	
Frografía	Δ
Principios físicos	
Parámetros de adquisición de las imágenes	
Ventajas e Inconvenientes	4
Ecografía en Reptiles	4
Ecografía en Quelonios	4
Ecografía en Lagartos	5
Tomografía Computarizada	5
Principios físicos	5
Parámetros de adquisición de las imágenes	5
Técnicas de Renderización: Principios y Conceptos	5
Técnicas basadas en el umbral (binarias)	5
Técnicas basadas en el volumen (continuas)	5
Proyección de Máxima Intensidad	5
Proyección de Mínima Intensidad	5
Ventajas e Inconvenientes	6
Artefactos de TC	6
Tomografía Computarizada en Reptiles	6
Tomografía Computarizada en Quelonios	6
Tomografía Computarizada en Lagartos	
Microtomografia Computarizada	9
Resonancia Magnetica.	9
	9
ESPOCIO K	10 10
Fai anneu os de auquisición de las inidgenes	10
FULLUIES LAUTISELUS	1U 11
ruciones inconvenientes	11 11
Artefactos en RM	LL 11
	LT
Resonancia Magnética en Rentiles	
Resonancia Magnética en Reptiles Resonancia Magnética en Quelonios	

MATERIAL Y MÉTODOS
Animales136Tortuga boba (Caretta caretta)136Iguana verde (Iguana iguana)137Iguana rinoceronte (Cyclura cornuta cornuta)138
Secciones anatómicas
Tomografía Computarizada
Resonancia Magnética
RESULTADOS Y DISCUSIÓN
RESULTADOS PUBLICADOS
Intensity Projection Images. Animals, 13, 621. https://doi.org/10.3390/ani13040621149 <b>Capítulo 2:</b> González Rodríguez, E.; Encinoso Quintana, M.; Morales Bordon, D.; Garcés, J.G.; Artiles Nuez, H.; Jaber, J.R. (2023). Anatomical Description of Rhinoceros Iguana (Cyclura cornuta cornuta) Head by Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging and Gross-Sections. Animals, 13, 955. https://doi.org/10.3390/ani13060955
RESULTADOS PENDIENTES DE PUBLICAR
CONCLUSIONES
CONCLUSIONS
<b>RESUMEN</b>
SUMMARY
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
ANEXOS
ANEXO 1: Artículos publicados 214
ANEXO 2: Artículos pendientes de publicar 242

# ABREVIACIONES Y CONSIDERACIONES TERMINOLÓGICAS

CC: cráneo-caudal	MPR: reconstrucción en múltiples planos
CITES: Convención sobre el Comercio	o multiplanar
Internacional de Especies Amenazadas de	MRI: imágenes por resonancia magnética
Fauna y Flora Silvestres	ms: milisegundos
C/Kg: culombio por kilogramo	NEX: número de adquisiciones o
cm: centímetros	excitaciones
DFT: Transformada Discreta de Fourier	R: roentgen
DP: densidad protónica	RF: radiofrecuencia
DV: dorso-ventral	RM: resonancia magnética
eV: electronvoltio	RMN: resonancia magnética nuclear
FA: Flip Angle	ROI: región de interés
FAST-SE: secuencias espín-eco rápidas	SE: secuencias espín-eco
FLAIR: Fluid Attenuated Inversion	SONAR: Sound Navigation and Ranging
Recovery	S/R: relación señal/ruido
FOV: Field of View, campo de visión	STIR: Short Time Inversion Recovery
GRE: secuencias eco de gradiente	T: tesla
IR: secuencias inversión-recuperación	TA: tiempo de adquisición
J: julio	TC: tomografía computarizada
kVp: kilovoltaje de pico	TE: tiempo de eco
LL: latero-lateral	TI: tiempo de inversión
mA: miliamperio	TR: tiempo de repetición
mAs: miliamperio segundo	UH: unidades Hounsfield
MAT: matriz	UICN: Unión Internacional para la
MHz: megahercios	Conservación de la Naturaleza
mm: milímetros	ULPGC: Universidad de Las Palmas de
MinIP: Minimum Intensity Projection,	Gran Canaria
Proyección de Mínima Intensidad	UVB: radiación ultravioleta tipo B
MIP: Maxmimum Intensity Projection,	UVC: radiación ultravioleta tipo C
Proyección de Máxima Intensidad	V: voltio

VD: ventro-dorsal
VR3D: Volume Rendering 3D
W: vatio
WL: window level, nivel de ventana
WW: window width, ancho de ventana
μm: micrómetros
μTC: microtomografía computarizada

**Grupo parafilético:** se refiere a un conjunto de seres vivos que comparten un antepasado común, pero no abarca a todos sus descendientes. Es decir, incluye al ancestro común más reciente de sus miembros, pero deja fuera deliberadamente a algunos descendientes que comparten ese mismo ancestro.

**Grupo monofilético o clado:** conjunto de seres vivos que abarca a todos los miembros de una línea evolutiva específica y no excluye a ningún descendiente directo del ancestro común. Este tipo de grupo se caracteriza por representar una rama completa y única del árbol genealógico evolutivo.

Los reptiles son un grupo numeroso de animales que, desde tiempos inmemoriales, han causado un interés particular debido a la gran diversidad entre las especies que constituyen la Clase y su capacidad adaptativa, ya que han colonizado con éxito en el pasado, la mayor parte del planeta, incluyendo los océanos y algunos de los ecosistemas más hostiles e inestables de la Tierra, a excepción de los polos (Figura 1). Representan, además, la primera transición exitosa a la vida terrestre, contando con más de 12.000 especies actualmente existentes clasificadas en cuatro categorías: escamosos, quelonios, cocodrilianos y tuátaras (Uetz *et al.*, 1995; Pincheira-Donoso *et al.*, 2013; Ruggiero *et al.*, 2015).



**Figura 1.** Distribución geográfica de los reptiles en 2020. <u>Fuente: http://www.reptile-database.org/db-info/diversity.html</u>.

Este interés ha supuesto un incremento en el número de las publicaciones que se centran en el estudio exhaustivo de los reptiles, lo que ha contribuido al avance en los últimos años de la medicina veterinaria, dando lugar a una mayor validación científica de la información sobre estas especies (Ludewig *et al.*, 2012). Los conocimientos son, por tanto, cada vez más especializados y profundos. No obstante, la bibliografía sigue siendo más limitada y existen menos materiales de referencia accesibles en este área en comparación con los existentes referidos a los mamíferos domésticos (Holmes and Divers, 2019a). Esta situación resalta la importancia de profundizar en el conocimiento

de la anatomía y las patologías de los reptiles, así como en familiarizarse con las técnicas diagnósticas para su más completa evaluación.

Los reptiles requieren de unos cuidados y una atención veterinaria orientada a unas necesidades específicas, que poco tienen en común con los cuidados de las mascotas más tradicionales, como perros y gatos. Desde el manejo adecuado del hábitat, hasta el diagnóstico y tratamiento de enfermedades propias de estas especies, la medicina veterinaria enfocada en estos pacientes demanda profesionales capacitados y actualizados en este ámbito (Banzato *et al.*, 2013a). Esto implica un enfoque multidisciplinario que abarca desde la medicina preventiva y el manejo adecuado, hasta el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, lo que incluye la realización de exámenes físicos, pruebas diagnósticas, procedimientos quirúrgicos y una profilaxis apropiada (Holmes and Divers, 2019a).

En la actualidad, se dispone de medios diagnósticos y terapéuticos que hasta hace pocos años no eran no eran posibles de aplicar en estas especies encuadradas en la clínica de animales exóticos/salvajes. Las distintas pruebas diagnósticas con las que actualmente se cuenta pueden variar según se trate de una especie u otra, así como del caso clínico en cuestión. Las técnicas de diagnóstico por imagen han revolucionado la medicina veterinaria al permitir una evaluación precisa, ejerciendo un papel protagonista por su capacidad a la hora de identificar patologías y planificar procedimientos, así como estudiar características propias del paciente, convirtiéndose también en herramientas útiles a tener muy en cuenta en el campo de la docencia e investigación en la medicina veterinaria (Junghanns et al., 2011). Es por ello por lo que, cada vez son más los centros clínicos, zoológicos y centros de recuperación que cuentan con diversos equipamientos de imagen. Las técnicas de imagen convencionales, como la radiografía y la ecografía, son las más ampliamente utilizadas por los profesionales clínicos en la práctica veterinaria. No obstante, cada vez es más frecuente el uso de técnicas de imagen avanzadas, como la tomografía computarizada (TC), y la resonancia magnética (RM), que presentan grandes ventajas diagnósticas frente a las convencionales y que, además de no ser invasivas, proporcionan información sobre estas especies, ofreciendo un mayor nivel de detalle y contraste entre los tejidos (Maas, 2019).

Recientemente, se ha observado un paulatino aumento estudios en distintas especies de reptiles, aplicando para ello diferentes técnicas de diagnóstico por imagen, lo que se traduce en un incremento en la producción científica que impulsa el conocimiento de la anatomía y fisiología de estas especies, contrarrestando las limitadas referencias en este ámbito (Gráfico y Tabla 1). Estos artículos han proporcionado una valiosa fuente de información que contribuye a la mejora del manejo de enfermedades en reptiles mediante la obtención de imágenes. La bibliografía existente suele estar enfocada en el estudio de enfermedades que afectan a diferentes aparatos y sistemas, así como de la apariencia normal de los mismos. De esta manera, se encuentran artículos referidos al sistema musculo-esquelético (Jones et al., 2012; Cieri, 2018), sistema cardio-respiratorio (Pees et al., 2007, 2009; Gustavsen et al., 2014; Schilliger, 2022), sistema nervioso (Anderson et al., 2000; Mariani, 2007), a los aparatos gastrointestinal (Di Bello et al., 2006; Williams et al., 2013), urogenital (Hernandez-Divers, 2003; Prades et al., 2013a; b; Schmidt et al., 2020), así como publicaciones enfocadas en la evaluación y control de la reproducción (Robeck et al., 1990; Rostal et al., 1990; Sainsbury and Gili, 1991; Mehler et al., 2002; Gumpenberger, 2017), en distintas especies de reptiles. Del mismo modo, mediante el uso de esta tecnología, muchas de estas publicaciones han centrado sus estudios en la anatomía, describiendo en profundidad diferentes regiones anatómicas, elaborando verdaderos atlas que sirven de apoyo, tanto clínico como docente (Arencibia et al., 2006; Banzato et al., 2012; Billings et al., 2020; Kari D. et al., 2022)



Año	Documentos
2000	424
2005	706
2010	1040
2015	1139
2020	1525
2023	1284

Gráfico y Tabla 1. Documentos publicados relacionados con los reptiles desde 2000 hasta la actualidad. Fuente: https://www.scopus.com.

Esta situación ha supuesto un cambio de paradigma en la medicina veterinaria. Los profesionales veterinarios, no solo deberán adquirir los conocimientos básicos de anatomía en relación con las especies de interés, sino también los métodos de sujeción necesarios para obtener las imágenes diagnósticas. A su vez, también deberán identificar los distintos aspectos patológicos presentes en las imágenes, haciendo uso de las técnicas más adecuadas para una apropiada interpretación de los resultados (Banzato *et al.*, 2013a).

La investigación de la anatomía craneal de la tortuga boba (Caretta caretta), la iguana verde (Iguana iguana), y la iguana cornuda (Cyclura cornuta cornuta), empleando TC, RM y cortes anatómicos, constituye el foco central de esta Tesis Doctoral. Este proyecto se alinea con la línea de investigación llevada a cabo de manera conjunta en los últimos años por el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), y la Unidad Docente de Anatomía y Embriología de la Facultad de Veterinaria de la misma universidad. La elección de estas especies como objeto de estudio se basa en la llegada de tortugas marinas a las costas canarias clasificadas como vulnerables, así como en la disminución exponencial de la población de la iguana rinoceronte (Cyclura cornuta cornuta), que se encuentra clasificada como en peligro crítico de extinción según la Lista Roja de especies amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Casale y Tucker, 2017; Pasachnik y Carreras De León, 2019). Dada la carencia de estudios científicos específicos que integren las técnicas utilizadas en esta investigación, este trabajo se presenta como una contribución esencial para avanzar en el conocimiento y la conservación de estas especies en riesgo y otras afines.

#### **Objetivo General:**

Esta Tesis Doctoral tiene como objetivo principal profundizar en la anatomía del cráneo de tres especies de reptiles: *Iguana iguana, Cyclura cornuta cornuta y Caretta caretta,* con el fin de enriquecer la comprensión de la anatomía comparada, con la finalidad de potenciar su utilidad en la exploración y práctica clínica, al igual que facilitar el diagnóstico de posibles patologías que puedan afectar a estas especies.

#### **Objetivos Específicos:**

A partir del objetivo general, se pueden derivar los siguientes objetivos específicos que han sido plasmados en las siguientes publicaciones que han dado cuerpo a este trabajo de Tesis Doctoral y que se reflejan en la presente memoria:

- Estudio comparado del cráneo de la iguana verde (*Iguana iguana*), y de la tortuga boba (*Caretta caretta*), mediante reconstrucciones por Tomografía Computarizada: *Volume Rendering* y Proyecciones de Máxima Intensidad.
- Estudio del sistema nervioso central y estructuras asociadas de la iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), mediante secciones anatómicas, Tomografía Computarizada y Resonancia Magnética.
- Estudio osteológico del cráneo de la iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), mediante Tomografía Computarizada: *Volume Rendering* y Proyecciones de Máxima Intensidad.

#### Evolución y situación actual de los reptiles

Los antiguos reptiles que poblaron la tierra hace millones de años, parecen ser el tronco común de las aves y los reptiles que conocemos en la actualidad. Si bien ambos son vertebrados, la evolución de cada grupo ha revelado una enorme diversidad, a pesar de compartir algunos rasgos, como el desarrollo de huevos con cáscara, o la respiración pulmonar, entre otras características. La sistemática filogenética, que clasifica animales según sus ancestros evolutivos, ha contribuido a la comprensión de estas relaciones, situando a las aves y reptiles dentro de dos clases bien diferenciadas: Aves y Reptilia (Ruggiero *et al.,* 2015). Debido a la amplia riqueza de formas, la clasificación de los mismos se ha cuestionado constantemente.

La obra del médico naturalista austriaco Laurenti (1768), es ampliamente reconocida como el primer tratado sobre la clase Reptilia. En este trabajo pionero, Laurenti profundizó en la función del veneno en reptiles y anfibios. Su influyente contribución a la herpetología no solo definió treinta géneros de reptiles, sino que también enriqueció significativamente la comprensión taxonómica, especialmente en comparación con la obra de Linnaeus (1758), quien estableció el grupo "Reptilia" como una Clase para incluir animales tetrápodos que no pertenecían ni a mamíferos ni a aves. A pesar de que Owen, (1854), incluyera a los anfibios en este grupo, Haeckel (1866), demostró posteriormente que reptiles, aves y mamíferos compartían una característica reproductiva común: **el huevo amniótico**. Esto llevó a la clasificación de ranas, salamandras y cecilias en un grupo separado denominado "Amphibia" por Linnaeus (Modesto y Anderson, 2004).

La principal distinción entre reptiles, aves y mamíferos se centraba en que los reptiles son animales de sangre fría y carecen de características como pelo y plumas. La observación de fósiles asignados a Reptilia con características propias de mamíferos condujo a la creación del grupo "Synapsida" como una Subclase de Reptilia. Aunque se reconocía que los sinápsidos estaban más relacionados con los mamíferos que con otros reptiles, muchos científicos no veían inconveniente en considerar a Reptilia como un grupo parafilético, una concepción que no abarca a todos los descendientes del ancestro común y excluye algunos linajes evolutivos. Esta idea se convirtió en la hipótesis clásica

que explicaba la evolución de los mamíferos a partir de los reptiles (Modesto y Anderson, 2004).

Con la llegada de la sistemática filogenética, la definición de Reptilia se basó en un punto específico de la evolución tomando como referencia las tortugas, las serpientes, los lagartos y los cocodrilos actuales. Se descubrió que las aves comparten un ancestro común con los reptiles actuales, y se las clasificó dentro del clado Sauropsida, que incluiría tanto a anápsidos como a diápsidos. Se ha propuesto reemplazar Reptilia por Sauropsida, pero esto no se ha adoptado ampliamente. Gauthier *et al.* (1988), propusieron una definición de Reptilia como un grupo corona monofilético que contiene tortugas, lagartos, serpientes, cocodrilos y aves, pero se consideró inadecuada en ese momento (Modesto y Anderson, 2004).

La filogenia de Gauthier *et al.* (1988), fue la principal referencia hasta que Laurin y Reisz, (1995), presentaron los términos Parareptilia y Eureptilia. Modesto, (1999), reconoció a Reptilia como un término más antiguo y estableció la definición de Parareptilia de De Braga y Reisz de 1996. Otras definiciones han surgido, y una de Modesto y Anderson, (2004), incluye aves, basándose en la cercanía a ciertos reptiles. Anápsida, grupo definido por Gauthier *et al.* (1988), no ha sido muy respaldado en estudios recientes de fósiles de tortugas, sugiriendo que son diápsidas, por lo que las controversias sobre sus relaciones aún persisten. Sin embargo, el uso de Reptilia es preferible al de Sauropsida ya que captura el significado tradicional del taxón, según ha evolucionado el concepto. La evolución en la comprensión de la filogenia de los reptiles resalta cómo fluctúan los conceptos científicos y cómo esto impacta en la clasificación de los seres vivos (Modesto and Anderson, 2004).

En la actualidad, el estudio de estas especies se beneficia significativamente de las tecnologías avanzadas, siendo una tarea crucial dada la variabilidad morfológica interespecífica (Ricciardi *et al.*, 2019).

A nivel de conservación, la UICN ha elaborado la Lista Roja donde se destaca un número elevado de especies amenazadas de reptiles distribuidas en distintas categorías, resaltando más de 620 especies consideradas como <u>vulnerables</u>, más de 780 especies <u>en peligro</u>, y más de 430 <u>en peligro crítico</u>, subrayando la importancia de medidas de conservación urgentes (Lista Roja UICN).

Para el mejor conocimiento de estas especies, es imprescindible profundizar en la anatomía de estos animales. En la actualidad, gracias al desarrollo de nuevas tecnologías basadas en la obtención de imágenes, el estudio anatómico de estas especies se beneficia significativamente, y se posicionan como técnicas fundamentales dada la variabilidad morfológica interespecífica.

#### Anatomía

Al igual que ocurre en el resto de los vertebrados, el cráneo de los reptiles es una estructura extremadamente compleja, compuesta por tejidos derivados de múltiples fuentes embrionarias. La complejidad de esta estructura y la amplia diversidad morfológica, son un reflejo de la interacción de innovaciones en el desarrollo evolutivo bajo el contexto de diversas demandas funcionales: desde la adquisición de alimentos, hasta la selección sexual y la defensa, pasando por el soporte y la protección del encéfalo y los órganos de los sentidos (Evans, 2008). El cráneo de los reptiles se distingue del de los anfibios por **su mayor grado de osificación** y **densidad ósea**, y está constituido por hueso y cartílago, unidos por ligamentos y otros tejidos conectivos (Evans, 2008; Rachit K y Sumitra, 2008).

Los reptiles forman el clado más diverso de vertebrados terrestres vivos, de ahí que la clasificación de los mismos siempre haya sido motivo de controversia. Inicialmente, se clasificaban por su morfología craneal en dos grupos: **anápsidos** y **diápsidos**. Los **anápsidos** presentan una estructura craneal carente de aberturas o fenestras temporales verdaderas, donde los quelonios eran los únicos representantes vivos de este grupo (Bever *et al.*, 2016) (Figura 2).



Figura 2. Dibujo de cráneo anápsido. <u>Fuente</u>: Eligia González Rodríguez.

El resto de reptiles pertenecían al grupo de los **diápsidos**, quienes presentan aberturas temporales, las cuales están especialmente bien desarrolladas en lagartos y serpientes (Sobral *et al.*, 2016). La abertura supratemporal, surgió por la separación de la barra postorbito-escamosa del parietal, y la abertura temporal inferior o lateral, apareció entre el escamoso y el yugal (Figura 3).



**Figura 3.** Dibujo de cráneo diápsido. <u>Fuente</u>: Eligia González Rodríguez.

Hasta que, en 2015, un estudio por TC centrado en el cráneo fósil de un espécimen antepasado de las tortugas (*Eunotosaurus africanus*), previamente clasificado como anápsido, reveló que las fosas craneales estaban cubiertas por diferentes huesos. La abertura temporal superior (UTF), observada en el ejemplar juvenil, se conserva en el adulto, pero está cubierta por el desarrollo postnatal del hueso supratemporal alargado (Figura 4). La abertura temporal inferior es una condición secundaria que evolucionó mediante la expansión de los huesos yugal, cuadratojugal y escamoso. Estos hallazgos proporcionaron una evidencia sólida de que las tortugas debían ser clasificadas como diápsidas (Bever *et al.*, 2015; Schoch y Sues, 2015).



**Figura 4.** (a, b) Restos fósiles de la cabeza de *Eunotosaurus africanus*. (c, d) Renderizado digital en vistas dorso-lateral (c), y dorsal (d), con el hueso supratemporal eliminado digitalmente en cada una. ar: hueso articular; ep: hueso epipterigoides; ls: lateroesfenoides; pa: hueso parietal; po: hueso postorbitario; pfr: hueso postfrontal; pt: hueso pterigoides; qj: hueso cuadradoyugal; sq: hueso escamoso; UTF: fenestra temporal superior; po: hueso postorbital. <u>Fuente</u>: (Bever *et al.*, 2015)

Con el fin de simplificar la descripción anatómica de cada hueso, éstos se han organizado en grupos según su origen y la ubicación que ocupan en el cráneo:

Neurocráneo: protege al encéfalo. Puede dividirse a su vez en dos partes: la región orbitotemporal, mayoritariamente cartilaginosa, y la región oticooccipital, fundamentalmente ósea, que engloba la parte posterior del encéfalo y las estructuras del oído interno. Los huesos que lo conforman son, de rostral a caudal: el esfenoides, el basiesfenoides, el basioccipital, el proótico, el otooccipital, el exoccipital, el supraoccipital y el opistótico (Figura 5). En individuos jóvenes es posible diferenciar las suturas entre los distintos huesos, pero a medida que alcanzan la etapa adulta, se fusionan dificultando la visualización de los limites (Evans, 2008; Curtis *et al.*, 2013).

Dermatocráneo: protege los órganos de los sentidos. Forma la mandíbula superior y ofrece soporte a los músculos mandibulares de la garganta y del cuello. En función de la localización en el cráneo, se puede dividir en: huesos del techo craneal (nasal, frontal y parietal), huesos con dientes de la mandíbula superior (premaxila y maxila), huesos circumorbitales (prefrontal, lacrimal, postorbital), huesos temporales yugal, postfrontal (escamoso y y supratemporal), huesos del paladar (septomaxilar, vómer, palatino, pterigoides y ectopterigoides), y huesos derivados de la osificación del cartílago pterigocuadrado (cuadrado y epipterigoides) (Barahona et al., 1998; Evans, 2008). Por otro lado, Evans manifiesta que estos últimos huesos son derivados del cartílago palatocuadrado. El hueso cuadrado osifica a partir del proceso cuadrado del cartílago palatocuadrado, y el epipterigoides a partir del proceso ascendente (Figura 5).



**Figura 5.** Dibujos del neurocráneo de iguana verde (*Iguana iguana*). A: vista lateral, B: vista ventral, C: vista caudal. Bo: hueso basioccipital; ch: coana; Ec: hueso ectopterigoides; Ep: hueso epipterigoides; Fr: hueso frontal; J: hueso yugal; L: hueso lacrimal; Mx: hueso maxilar; N: hueso nasal; Ot: hueso otoccipital; P: hueso parietal; Pa: hueso palatino; Po: hueso postorbital; Pfr: hueso postfrontal; Pocc: proceso parooccipital; Prf: hueso prefrontal; Px: hueso premaxilar; Q: hueso cuadrado; Sof: abertura infraorbital; Sp: hueso esfenoides; Sq: hueso escamoso; St: hueso supratemporal; St.fen: abertura infratemporal; Stp: estribo; Pt: hueso pterigoides; V: hueso vómer; So: hueso supraoccipital. <u>Fuente</u>: (Evans, 2008)

 Mandíbula inferior: la componen los huesos de origen dermal: dentario, esplenial, coronoides, angular, surangular; y el articular, siendo este último el único de origen endocondral (Barahona *et al.*, 2000; Evans, 2008) (Figura 6).



**Figura 6.** Dibujos de mandíbula inferior de iguana verde. A: vista rostro-caudal aspecto medial, B: vista caudo-rostral aspecto lateral. An: hueso angular; An.pr: proceso angular; Art: hueso articular; Co: hueso coronoides; Co.pr: proceso coronoideo; D: hueso dentario; f.Md5: foramen del nervio trigémino; f.ch.ty: foramen del nervio timpánico; la.pr: proceso labial del coronoides; PArt: hueso prearticular; rap: proceso retroarticular; San: hueso surangular; Spl: hueso esplenio; sy: sínfisis; add.fs: fosa adductora. <u>Fuente</u>: (Evans, 2008)

#### **Orden Testudines**

Las tortugas, consideradas reptiles primitivos, son los primeros representantes de esta clase. Con alrededor de 360 especies, la mayoría son acuáticas o semi-acuáticas (Lista Roja UICN; Uetz *et al.*, 2020).

Los quelonios se dividen en dos subórdenes según su habilidad para introducir la cabeza en su caparazón. **Pleurodira**, conocidas como tortugas de cuello lateral, presentan tres puntos principales de flexión en el cuello, adoptando así una forma de "s". Éstas, no logran retraer la cabeza en su caparazón, en su lugar, la desplazan lateralmente. Las Pleurodiras o tortugas de cuello lateral se encuentran actualmente restringidas a entornos de agua dulce en América del Sur, África-Madagascar y Australia, pero en el pasado tenían una distribución mucho más amplia (Ferreira *et al.*, 2018). **Cryptodira**, también llamadas tortugas de cuello oculto, descienden el cuello de forma recta y directa, contrayéndolo para esconderlo dentro del escudo óseo. Este suborden abarca la mayoría de las especies de quelonios, compuesto por 11 familias. Algunas especies, como las tortugas marinas, han perdido la capacidad de esconder la cabeza en su caparazón (Saber y Kamal, 2010).

El cráneo de las distintas especies de tortugas ha sido objeto de estudio de diversas publicaciones (Wyneken, 2001; Jones *et al.*, 2012; Yamaguchi *et al.*, 2021). Si bien existen diferencias en tamaño y morfología diagnósticas para clasificarlas, el cráneo presenta una serie de características generales. Las tortugas poseen un cráneo robusto y carente de articulaciones con excepción de la mandíbula, es decir, es un cráneo **no cinético** (Ferreira *et al.*, 2020). La porción caudal es más ancha y se va estrechando rostralmente hacia las órbitas. En la cabeza, cubierta por escamas compuestas por epidermis engrosada y queratina, destacan los ojos, pequeños y redondos, dotados de párpados. El oído está cubierto por una capa de epidermis, carente de pabellón auditivo externo. El tracto respiratorio superior comienza externamente a través de las narinas externas y redondeadas, e internamente a través de la orofaringe, que presenta morfología triangular en la mayoría de los casos. La cavidad oral, carente de dientes, está delimitada rostralmente por la ranfoteca, que es una estructura queratinizada,
afilada y dura. Esta estructura cubre elementos como los huesos vómer, maxilar y premaxilar. Además, está asociada a una musculatura mandibular potente y una lengua grande, aunque no extensible, con la que agarran y manipulan el alimento (McArthur *et al.*, 2004; Orti *et al.*, 2004; Hedley, 2016).

El aparato hioideo es el armazón óseo que soporta la lengua, la faringe y el suelo de la boca. Está compuesto por un cuerpo, que presenta forma pentagonal, localizado entre ambas mandíbulas inferiores, que da soporte a la lengua; así como por el cuerno hial y los cuernos branquiales caudalmente, especialmente desarrollados en las tortugas. La glotis se encuentra en la base de la lengua y se continúa con la tráquea (Kardong, 2007a; Jones *et al.*, 2012).

Localizado profundamente a la zona de color rosa en las tortugas laúd (*Dermochelys coriacea*), el ojo pineal es la estructura encargada de modular los ritmos biológicos. Sin embargo, la posición no es tan claramente definida por un punto de referencia externo en otras especies de tortugas (Wyneken, 2001, 2007).

Estas especies poseen un caparazón compuesto por huesos dérmicos, incluyendo aproximadamente 60 huesos derivados de escápulas modificadas, cinturas pélvicas, vértebras del tronco, sacro y costillas. Están resguardadas por escamas queratinizadas llamadas "escudos" con inervación y riego vascular. El crecimiento del caparazón implica la adición de nuevas capas de queratina en la base de cada escudo. Las extremidades están ubicadas dentro del caparazón fusionado y se conectan mediante grandes músculos pectorales y pélvicos. Las especies terrestres tienen caparazones más abovedados, patas más cortas y robustas, mientras que las acuáticas exhiben patas similares a aletas, un caparazón más plano y blando para una mejor hidrodinámica. (O'Malley, 2018).

Finalmente, la literatura sobre dimorfismo sexual en el tamaño corporal en tortugas indica que, en hábitats acuáticos, las hembras son más grandes que los machos, mientras que en entornos semi-acuáticos y terrestres, los machos muestran un tamaño superior (Agha *et al.*, 2018).

# **Orden Squamata**

Constituye el grupo más numeroso de reptiles, con aproximadamente 11.000 especies. Todos los animales incluidos en este grupo están cubiertos por un tegumento cuya superficie varía considerablemente, pudiendo ser desde escamosa a lisa. Este orden incluye a los lagartos y las serpientes (Lista Roja UICN; Uetz *et al.*, 2020).

El cráneo suele ser robusto, ligeramente alargado y, a diferencia de las tortugas, es cinético, esto es que presentan la capacidad de que los huesos craneales se muevan internamente, permitiendo liberar las tensiones generadas durante la alimentación. Los ojos son pequeños y cuentan con parpados móviles: uno superior; uno inferior, este último con mayor movilidad, con la capacidad de desplazarse dorsalmente y cerrar el ojo; y un tercer párpado o membrana nictitante. Presentan un septo interorbital incompleto (Rachit K y Sumitra, 2008). Próxima a los ojos se suele observar una estructura similar a una escama diferenciada que es el lugar de ubicación del oído externo. A veces, esta estructura se presenta como una especie de fosa o un canal corto, con la membrana timpánica en el interior. En otras ocasiones, la membrana timpánica puede estar recubierta de tegumento. Ambas membranas timpánicas se comunican con la faringe. En muchas especies, es posible observar una estructura en la parte superior y central de la cabeza, a la altura de los huesos parietales, conocida como el tercer ojo u ojo pineal. Se trata de un ojo degenerado que contiene una única lente y una especie de retina. Sólo es capaz de detectar la cantidad de luz y no genera imágenes. Esta estructura está conectada a la glándula pineal, que está relacionada con la termorregulación, los ciclos circadianos y la reproducción (Kardong, 2007b).

La apertura oral en estas especies no está delimitada por labios. La lengua varía en tamaño y forma, pudiendo ser corta, extensible o incluso bífida. En ocasiones, la punta de la lengua puede aparecer pigmentada, como en algunos miembros de la familia Iguanidae, y no debe confundirse con una lesión o proceso patológico. La lengua más especializada la presentan los animales de la familia Chamaleontidae. En cuanto a los dientes, en la mayoría de los casos son pleurodontos, es decir, se fijan en el borde medial

de los huesos premaxilares, maxilares y el extremo anterior del dentario (aunque a veces pueden aparecer en los pterigoideos y palatinos) sin que existan alveolos dentarios. Algunas familias presentan dientes acrodontos, es decir insertados en el hueso, aunque también sin alveolos. En casos muy excepcionales, existen especies tecodontas, es decir que presentan alveolos dentarios. Los dientes, sobre todo en los pleurodontos, se reemplazan durante casi toda la vida del animal y pueden ser homodontos, si todas las piezas presentan la misma morfología, o heterodontos, si son diferentes (Hedley, 2016).

La laringe consta de una serie de cartílagos, entre los que destacan el cartílago aritenoides y un cartílago cricoides anular. En ocasiones, existen pliegues que se asemejan a las cuerdas vocales de los mamíferos, lo que les permite generar sonidos. El aparato hioideo en estos animales se encuentra en el espacio intermandibular proporcionando soporte a la lengua y la laringe. Está compuesto por una pieza pentagonal que presenta un proceso anterior y dos procesos caudolaterales. El mayor desarrollo de esta estructura lo presentan las especies de la familia Chamaleontidae (Kardong, 2007a).

Los reptiles escamosos suelen presentar un claro dimorfismo sexual, salvo en edades previas al desarrollo (Di Ianni *et al.*, 2015). Por ejemplo, los machos de la iguana rinoceronte presentan escamas modificadas más pronunciadas que las hembras, que están localizadas dorsalmente a los huesos nasal y prefrontal, en la región interorbital, a modo de pseudocuernos.

# TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEN PARA EL ESTUDIO ANATÓMICO Y PATOLÓGICO DE REPTILES

En este capítulo, se pretende realizar una recopilación de los avances en el conocimiento de la anatomía y de las patologías frecuentes de los reptiles quelonios y escamosos mediante el uso de las técnicas de diagnóstico por imagen, desde las pruebas más convencionales (radiografía y ecografía), hasta las más avanzadas (TC y RM).

# Radiografía

En 1895, el físico alemán Wilhelm Conrad Roentgen realizó los primeros estudios en radiación ionizante (rayos X), en tejido vivo humano, para la obtención de imágenes que marcaría un antes y un después en el campo de la medicina. Este hallazgo desplegó un abanico de posibilidades revolucionarias en el ámbito del diagnóstico médico. Por su destacada contribución, Roentgen recibió el Premio Nobel de Física en 1901, inaugurando una era de avances médicos sin precedentes. Pronto, los rayos X se convirtieron en una herramienta fundamental para obtener imágenes detalladas de huesos y tejidos humanos y animales, que mejorarían el diagnóstico de enfermedades, la planificación de intervenciones quirúrgicas y el control efectivo del progreso de los tratamientos. Su legado perdura, siendo una de las pruebas de diagnóstico por imagen más importantes y ampliamente utilizadas en medicina humana y veterinaria (Scatliff y Morris, 2014; Holmes y Divers, 2019a).

# Principios físicos

Para estudiar la física de la radiografía y los rayos X, antes se deben conocer varios conceptos. La radiación electromagnética consiste en la vibración de un campo eléctrico y magnético perpendiculares entre sí que se transmite a lo largo del vacío y los medios materiales (Figura 7). La onda es de carácter sinusoidal (seno o coseno), y su comportamiento ondulatorio viene definido por los parámetros característicos:

frecuencia (v, Hz), y longitud de onda ( $\lambda$ , m). Ambos parámetros están relacionados entre sí por medio de la velocidad de propagación de la luz (c, m/s), que, como se sabe, es una constante universal.

$$c = v \cdot \lambda$$

Como se puede observar, la frecuencia y la longitud de onda son inversamente proporcionales. En consecuencia, ondas electromagnéticas con longitudes de onda corta implican radiaciones de alta frecuencia. Estos son los casos de las radiaciones gamma y X. La frecuencia y la energía son directamente proporcionales, y la constante de proporcionalidad se denomina *constante de Planck* (*h*).

$$E = h \cdot v = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

La expresión anterior representa la energía que proporciona la radiación electromagnética, o lo que es lo mismo, la **energía del fotón**. Un fotón se puede considerar como un paquete discreto de radiación electromagnética en lugar de una onda, facilitando la comprensión de porqué los rayos X crean una imagen o causan daño por radiación. La unidad característica para medir la energía de un fotón es el electrón-voltio (eV), submúltiplo del julio (J), al tratarse de un valor muy pequeño de energía en julios. Representa la energía ganada por un electrón cuando se acelera en una diferencia de potencial de 1 voltio (V). Sin embargo, los rayos X con una energía de sólo 15 eV, pueden producir la ionización de los átomos de la materia. Lo mismo sucede con la radiación ultravioleta de tipo C (UVC).

ES	<b>SPECTRO</b>	) ELE	CTR	OMAG	NÉTI	CO
Longitud de onda (en metros) Tamaño comparativo	a 10 <sup>3</sup> 10 <sup>2</sup> 10 1 Más larga	10 <sup>-1</sup> 10 <sup>-2</sup> 1	0 <sup>-3</sup> 10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup> 10 <sup>-6</sup> 10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup> 10 <sup>-9</sup> 10 <sup>-1</sup>	-10 10 <sup>-11</sup> 10 <sup>-12</sup> Más corta
Nombre de la banda	Casa ONDAS DE RADIO	MICROOND/	INF		IOLETA RAYOS 'OS X "BLANDOS"	X "DUROS" RAYOS GAMMA
Aplicaciones	Rado FM	Hornos microondas	Calor	corporal Bombillas Estufas IR Ger	micida Radog	Radioisótopos Rayos cósmicos Tratamiento del cancer
Frecugencia (en Hertzios)	10 <sup>6</sup> 10 <sup>7</sup> 10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup> 10 <sup>10</sup> 10 <sup>11</sup>	10 <sup>12</sup> 10 <sup>1</sup>	tografias infrarrojas $	0 <sup>16</sup> 10 <sup>17</sup> 10 <sup>18</sup>	10 <sup>19</sup> 10 <sup>20</sup> Más alta
	ES	PECTI	RO N	/ISIBL	E	
Color	700 Rojo	600 Naranja	Amarillo	500 Verde	Azul	400 nm Violeta
Longitud de onda	(nm) 622 - 780	597 - 622	577 - 597	492 - 577	455 - 492	390 - 455
Frecuencia (1014	HZ) 3.84 - 4.82	4.82 - 5.03	5.03 - 5.20	5.20 - 6.10	6.10 - 6.59	6.59 - 7.69

**Figura 7.** Representación del espectro electromagnético. <u>Fuente: https://esquema.net/espectro-electromagnetico-2/</u>

Basados en su interacción con la materia, los rayos X son una forma de radiación ionizante de alta energía capaz de atravesar diferentes materiales. Al igual que los rayos gamma, los rayos X forman parte del espectro de ondas electromagnéticas. Los rayos gamma (o rayos X duros), se producen por radioactividad en isotopos inestables y son una radiación que emerge del núcleo de dichos isótopos inestables. En contraposición, los rayos X (rayos X blandos), se producen a partir del impacto de electrones de alta energía que bombardean a "átomos diana". Fruto de esta interacción entre electrones surgen dos emisiones de rayos X: <u>la radiación de frenado</u> (radiación dispersa o de fondo), y <u>la radiación característica</u>, que es la que se utiliza con fines científicos/médicos. Cuando la radiación atraviesa el cuerpo, los rayos pueden ser absorbidos, dispersados o transmitidos según la densidad y composición de los tejidos que encuentren en su trayectoria. Es por esta razón, que es de vital importancia reducir al mínimo la exposición del personal que trabaja en entornos radiactivos (Korner *et al.*, 2007; Mazrani *et al.*, 2007; Thrall, 2018; Holmes y Divers, 2019a).

El tubo de rayos X (Figura 8), es el instrumento que permite producir dicha radiación. Consiste en un **tubo de vidrio**, en el que se ha realizado un vacío; y en **dos electrodos**: uno cargado positivamente (ánodo), y otro cargado negativamente (cátodo). Entre el ánodo y el cátodo se establece una fuerte diferencia de potencial (30-50kV), y desde el cátodo, que es un filamento de wolframio o tungsteno (W), salen emitidos hacia el ánodo electrones de alta energía. El impacto sobre el ánodo, que dependiendo del metal, se obtendrán diferentes longitudes de onda, provoca la radiación de frenado y la radiación característica. En medicina se utilizan objetivos o ánodos rotatorios, evitando el desgaste del mismo por el impacto en una posición fija o el excesivo calentamiento. Por este motivo se emplean objetivos de alto punto de fusión y de números atómicos elevados que aumentan la eficiencia en la producción de rayos X, como el tungsteno (W) que funde a 3.422°C, y con número atómico de 74; o molibdeno (Mo) que funde a 2.623°C, y con número atómico de 42.



Figura 8. Tubo de rayos X. A: ánodo, C: cátodo. Fuente: Wellman X-Ray Solution Co., Ltd. 2023

# Parámetros de adquisición de las imágenes

La diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo se ajusta mediante el kilovoltaje de pico (kVp), en el panel de control del equipo de rayos X. Aumentar el kVp significa incrementar la diferencia del voltaje entre el cátodo y el ánodo, lo que acelera los electrones a mayores velocidades aportándoles más energía cinética al impactar con el objetivo. Los electrones de más energía producen, por tanto, rayos X más energéticos. Por el contrario, la intensidad de corriente generada en el tubo de rayos X es del orden de los miliamperios (mA). El producto de la intensidad de corriente generada por el tiempo en el que se produce es lo que se conoce como carga eléctrica. La carga eléctrica generada en un tubo de rayos X cuantifica la cantidad de radiación producida. La unidad utilizada en los tubos de rayos X suele ser el miliamperio segundo (mAs), y es análoga, por ejemplo, a dejar una bombilla de 60 vatios (W), encendida el doble de tiempo que una bombilla de 120W. En ambos casos, el número total de fotones de luz emitidos sería aproximadamente el mismo, aunque la intensidad en la bombilla de 120W sería el doble. Una desventaja de usar un cátodo en forma de filamento es que no se pueden usar valores más altos de intensidad de corriente que el mA, dado que en caso contrario el filamento se sobrecalentaría llegando a fundirse.

Para comprender cómo se produce la imagen radiográfica, es necesario entender cómo interactúan los fotones con la materia. Los fotones pueden interactuar con la materia de diversas formas: dispersión coherente, efecto fotoeléctrico, dispersión *Compton* y producción de pares. La producción de pares no es relevante para la radiología diagnóstica (Thrall, 2018).

#### **Dispersión Coherente**

Un fotón interactúa con un objeto y la dirección cambia, pero el objeto no absorbe el fotón y la energía del mismo no cambia (Figura 9). La fracción de rayos X que impacta a un paciente y sufre dispersión coherente es pequeña, aproximadamente el 5%, y esta dispersión no es útil en la producción de la imagen radiográfica (Thrall, 2018).



Figura 9. Representación de la dispersión coherente. <u>Fuente</u>: (León Zamora, K. 2012)

#### Efecto Fotoeléctrico

Es el tipo de interacción de la radiación más importante en lo que respecta a la producción de la imagen radiográfica. En una interacción fotoeléctrica, el rayo X que golpea al paciente se absorbe por completo y, por lo tanto, no hay rayos X dispersos (Figura 10). La absorción completa del rayo X entrante conduce a una exposición reducida de la película en esa área del paciente. El fotón de rayos X absorbido expulsa un electrón (fotoelectrón), de una capa interna de un átomo del tejido. El fotoelectrón puede producir múltiples ionizaciones en el tejido, pero finalmente será absorbido por el paciente. Esta es la razón por la que se debe evitar la sobreexposición (Thrall, 2018).



Figura 10. Representación de la dispersión fotoeléctrica. <u>Fuente</u>: (Thrall y Widmer, 2018).

#### **Dispersión** Compton

Un fotón de rayos X entrante interactúa con un electrón de la capa periférica de un átomo del tejido. Este electrón es expulsado y el fotón entrante se dispersa en un ángulo diferente y a una energía menor (Figura 11). El electrón dispersado se denomina "electrón *Compton*". La probabilidad de que ocurra una reacción de *Compton* no depende del número atómico, pero sí de la densidad física del tejido (en gramos por centímetro cúbico). La dependencia del número atómico de la absorción fotoeléctrica resulta en grandes diferencias de absorción entre tejidos como el hueso y el músculo, resultando en un buen contraste entre tejidos. La dispersión de fotones que ocurre en la dispersión *Compton* es desfavorable porque los fotones dispersos plantean preocupaciones en términos de seguridad radiológica para los técnicos y también degradan la calidad de la imagen al generar turbidez (Thrall, 2018).



Figura 11. Representación de la dispersión *Compton*. <u>Fuente</u>: (Thrall y Widmer, 2018)

## Radiografía Digital

La transición a la radiología digital implica abandonar los principios tradicionales de obtención de imágenes radiográficas, optando por capturar, distribuir, visualizar y almacenar imágenes de manera electrónica. Los **detectores digitales** son componentes esenciales en los equipos de rayos X, responsables de absorber y cuantificar los fotones generados por el tubo de rayos X. Estos detectores transforman los fotones en luz visible, que luego se convierte en una señal eléctrica. La señal resultante, representada de forma gráfica, constituye una señal analógica que, a través de convertidores, se transforma en una señal digital mediante el sistema de adquisición de datos con la que trabajará el ordenador para crear la imagen final. Estos detectores están presentes en los equipos de rayos X y TC, los cuales desempeñan una función análoga a la de las placas radiográficas analógicos. Esto posibilita una captura más precisa de las variaciones en la absorción radiográfica (Korner *et al.*, 2007; Thrall, 2018; Holmes y Divers, 2019a).

La radiografía digital incluye diversas técnicas, como la radiografía digital indirecta y la radiografía digital directa. Los parámetros clave de calidad de imagen son la resolución espacial, el contraste y el ruido. Mientras que en la radiografía analógica la calidad de la imagen estaba limitada por el contraste, en la radiografía digital, el ruido se convierte en el principal factor restrictivo en la detección de objetos (Korner *et al.*, 2007; Jiménez *et al.*, 2008; Ludewig *et al.*, 2012; Holmes y Divers, 2019a).

La **resolución espacial** describe la capacidad del sistema para distinguir individualmente estructuras cercanas. La resolución espacial está correlacionada con la nitidez intrínseca del detector, que contribuye sustancialmente a la nitidez general de la imagen. El **contraste** describe la diferencia de brillo entre dos estructuras adyacentes. Debido al amplio rango de dosis, los sistemas digitales toleran la gran mayoría de los errores de exposición, por tanto, repetir los estudios radiográficos debido a configuraciones de exposición inadecuadas rara vez es necesario con los sistemas de imágenes digitales actuales. El **ruido** produce variaciones aleatorias en la señal que pueden ocultar información útil en una imagen. Las imágenes ruidosas aparecen granuladas o pixeladas.

El nivel de ruido depende principalmente de los elementos del sistema de radiografía, como el tipo de detector utilizado o la fuente de rayos X. Reducir la dosis, aumenta el efecto del ruido debido a la menor cantidad de fotones emitidos, lo que se traduce en una disminución de fotones que recibe el detector, lo que resulta en una relación señalruido (S/R) más alta. No es lo mismo el número de fotones que se envían, a los fotones que finalmente llegan al detector. Por lo tanto, el ruido sólo puede reducirse cuando se aplican más fotones, es decir, aplicando dosis más altas (Jiménez *et al.*, 2008; Thrall, 2018; Steiner *et al.*, 2023).

#### Ventajas e Inconvenientes

Las radiografías presentan la ventaja de ser una modalidad no invasiva para obtener una imagen bidimensional de alto nivel de detalle de las estructuras óseas para la evaluación de cambios patológicos como fracturas, neoplasias, procesos infecciosos, etc. Además, debido a su bajo coste, es una herramienta de diagnóstico que está ampliamente disponible, ofreciendo resultados rápidos, y sin necesidad de sedación o anestesia. La radiografía proporciona una excelente forma de evaluar la relación entre los órganos internos y detectar cambios obvios, como un efecto de masa dentro de la cavidad celómica. No obstante, la capacidad para evaluar la estructura de órganos individuales o la anatomía interna de los reptiles a veces se ve limitada debido a factores como la ausencia de delimitación grasa en los órganos, la presencia de piel gruesa o escamosa, y la variabilidad anatómica que caracteriza a estos animales. Finalmente, la radiografía es menos sensible que otras técnicas de diagnóstico por imagen, ya que existe, entre otras limitaciones, una superposición significativa de tejidos (Temizsoylu *et al.*, 2006; Banzato *et al.*, 2011; Christman *et al.*, 2017; Holmes y Divers, 2019b; Mathes *et al.*, 2019; Fazio, 2021; Steiner *et al.*, 2023).

También se debe tener en cuenta que se trata de una técnica que utiliza radiación ionizante, por lo que es imperativo implementar medidas correctivas para salvaguardar la integridad del personal, procurando obtener la información máxima con una exposición mínima a la radiación del paciente. Para determinar las condiciones óptimas, resulta fundamental establecer el umbral de radiación considerado perjudicial. A tal

efecto, la medida convencional de la cantidad de ionización en el aire generada por la radiación es crucial para evaluar el grado de exposición, expresándose en culombios por kilogramo de aire (C/kg). Un roentgen (R) equivale a una carga de ionización de 2.58 C/kg (Thrall, 2018).

#### Radiografía en Reptiles

La radiografía es una técnica de diagnóstico por imagen ampliamente empleada en reptiles, al igual que en otras especies. No obstante, su utilización en la práctica clínica diaria de reptiles es considerablemente menor en comparación con su aplicación frecuente en perros y gatos (Hernandez-Divers y Garner, 2003; Valente *et al.*, 2006).

Entre los factores más importantes que limitan su uso se encuentra el conocimiento del método diagnóstico por parte del profesional, tanto en su interpretación, como en la adecuada obtención de las imágenes utilizando las proyecciones adecuadas. Esto es debido a que existen menos materiales de referencia accesibles (libros, publicaciones, otros), así como a las diferencias morfológicas interespecíficas de los reptiles (Junghanns *et al.*, 2011). Estas especies carecen de diafragma, por lo que no presentan un tórax y abdomen diferenciados, como en los mamíferos, sino una cavidad denominada **cavidad celómica** (Schumacher, 1997). Una característica radiográfica significativa de dicha cavidad es su escaso contraste tisular debido a la reducida cantidad de grasa entre los órganos internos que disminuye el contraste entre los tejidos, dificultando la interpretación dada la superposición de estructuras de la misma opacidad, así como el limitado detalle entre ellas (Silverman, 1993; Holmes y Divers, 2019c; Fazio, 2021).

Sin embargo y a pesar de sus limitaciones, las aplicaciones que presenta son significativas al tratarse de una técnica rápida y de bajo coste, que aporta al clínico una visión global del estado del paciente, evaluando muchos sistemas diferentes simultáneamente y, por ello, debe tenerse en consideración (Schilliger, 2022).

#### Radiografía en Quelonios

Debido a su conformación morfológica, la radiografía de quelonios presenta un desafío mayor en comparación con la del resto de reptiles debido a la dificultad de obtener imágenes del interior de su armazón óseo, sobre todo en aquellos que cuentan con un caparazón proporcionalmente grueso (Junghanns et al., 2011). Las proyecciones estándar para examinar a estos pacientes son dorso-ventral (DV), lateral (LL), y cráneocaudal (CC), o frontal. La proyección DV se recomienda para evaluar los aparatos respiratorio, digestivo, genitourinario y el corazón, así como el esqueleto axial y paraxial, incluyendo el caparazón y las extremidades. Esta proyección se realiza en posición DV para una mejor estabilización del paciente, impidiendo el colapso pulmonar con el peso del resto de estructuras que ocurriría con una posición ventro-dorsal (VD). Del mismo modo, la proyección LL, obtenida con el haz horizontal, permite una evaluación de los anteriores con la excepción de las extremidades. Por el contrario, la proyección CC o frontal sólo permite examinar el caparazón y el aparato respiratorio, permitiendo una evaluación comparada del grado de aireación de los pulmones (Silverman, 1993; Schilliger, 2022). Normalmente, estos pacientes no suelen mostrar resistencia al examen radiológico, quedando inmóviles sobre la mesa de rayos X. En casos en donde esto no ocurra se puede recurrir a contención física (esparadrapos, cajas radiotransparentes), o a la sedación para obtener una mayor calidad de las imágenes (Holmes y Divers, 2019b; Fazio, 2021).

Los estudios radiográficos en quelonios se realizan en casos de patologías musculoesqueléticas (traumáticas o metabólicas), desórdenes gastrointestinales (aumentando su frecuencia con la aparición de redes y residuos plásticos antropogénicos en hábitat marino), neoplasias, procesos respiratorios, reproductivos y urinarios, y procesos neoplásicos (Schifino Valente, 2007).

La radiografía como técnica diagnóstica para evaluar el **sistema musculoesquelético** es de gran utilidad por el gran contraste que presenta. Una de las enfermedades que afecta al sistema musculoesquelético en estos pacientes, y que es común en todos los reptiles, es la enfermedad ósea metabólica, generalmente debida a deficiencias en el cuidado.

Se utilizan radiografías para caracterizar la naturaleza de la fractura y evaluar la presencia de pérdida ósea. En quelonios, se debe evaluar la densidad ósea mediante el examen radiográfico del caparazón, el cinturón pectoral y/o la pelvis (Junghanns *et al.*, 2011). Los cambios radiográficos del caparazón se observan con patrón apolillado debido a la presencia de cantidades excesivas de tejido conectivo; ausencia de la línea convexa del mismo, ya que la columna vertebral se pliega formándose dos jorobas en el cinturón pectoral o la pelvis. Las costillas y los huesos largos también pueden doblarse, incluso fracturarse (Jackson y Fasal, 1981; Cobos y Ribas, 1987).

En traumatismos o mordeduras que fracturen el caparazón, si el paciente tiene problemas neurológicos, es decir, que no puede moverse con normalidad, se debe realizar un estudio radiográfico para descartar la posibilidad de fracturas en la columna o la pelvis. Generalmente, las fracturas de caparazón suelen tener un buen pronóstico, especialmente si no involucran la médula espinal y no exponen la cavidad interna del cuerpo. Sin embargo, cuando la pelvis o la columna están afectadas o cuando hay múltiples fracturas, incluyendo contaminación interna, el pronóstico es más incierto (Music y Strunk, 2016).

En cuanto a los traumatismos antropogénicos, se incluyen la ingestión de desechos plásticos, lesiones por impacto de embarcaciones y enredos en redes de pesca. En el caso de las lesiones por enredos en redes de pesca pueden provocar heridas abrasivas simples o laceraciones cutáneas profundas que requieren amputación cuando la viabilidad de la extremidad se ve comprometida. Esta viabilidad ha sido evaluada utilizando métodos diagnósticos como la venografía de contraste seriado, utilizando radiografías con contraste diluido en el espacio subcutáneo para evaluar los tejidos blandos para la posterior observación de la perfusión venosa y linfática (D *et al.*, 2020; Boots *et al.*, 2022)

Al evaluar el **tracto gastrointestinal** de los quelonios, se debe tener en cuenta que el tiempo de tránsito de la ingesta, especialmente en las especies herbívoras, es muy largo, pudiendo tener variaciones significativas. Además, el tracto intestinal de estos pacientes

es mucho más corto que el de los mamíferos. Esto reduce la utilidad clínica de estudios radiográficos de contraste (Williams *et al.*, 2013).

Al igual que ocurre en otras especies, una pequeña cantidad de aire en el estómago y el tracto intestinal se considera un hallazgo radiográfico normal. Normalmente, el estómago se identifica como una estructura en el lado izquierdo del celoma con contenido gas o fluido. Cuando se realizan estudios radiográficos de la cavidad celómica, se debe prestar atención a la presencia de cuerpos extraños (arena, piedras), que suelen encontrarse en pequeñas cantidades de forma incidental y sin significación clínica. Sin embargo, la obstrucción gastrointestinal es común en los quelonios terrestres y acuáticos, y, en caso de quelonios domésticos, suelen ser debidas a ingestión de sustrato de cama u otros materiales.

Por otro lado, y al igual que ocurre en otras especies, las obstrucciones pueden ser originadas por procesos neoplásicos y/o problemas funcionales como torsiones intestinales o intususcepción, si bien estudios han reportado una incidencia relativamente baja de neoplasias y metástasis en quelonios. Los quelonios presentan una mayor tasa de tumores endocrinos que otros reptiles, como se identifica en la revisión actual, donde el adenocarcinoma de tiroides es el tumor de origen endocrino único más comúnmente informado en los quelonios (Christman *et al.*, 2017).

Lamentablemente, en las tortugas marinas en libertad los hallazgos comúnmente reportados en los últimos cinco años, son debidos a la acción del ser humano (Tabla 2).

Año	Publicaciones
2018	33
2019	26
2020	32
2021	38
2022	47
2023	25

Tabla2.Recuentodepublicacionesrelacionadasconresiduosplásticosentortugasmarinas.<u>Fuente:</u>PubMed\_Timeline\_Results\_by\_Year\_2023.

Los exámenes radiológicos son útiles para detectar la presencia de residuos antrópicos, como anzuelos de metal ingeridos, en el tracto digestivo de las tortugas marinas (Figura 12). Las redes de pesca, bolsas de plástico, residuos textiles y otros cuerpos extraños, mayoritariamente plásticos, también pueden causar alteraciones en el tracto gastrointestinal de estos pacientes. Sin embargo, su baja radiopacidad, dificulta la eficacia del estudio. No obstante, se ha reportado que el uso de medios de contraste puede permitir la identificación de los puntos de obstrucción (Di Bello *et al.*, 2006; Lebens *et al.*, 2016; de Oliveira *et al.*, 2020).



**Figura 12.** Radiografía DV de tortuga de orejas amarillas (*Trachemys scripta scripta*), donde se observan dos anzuelos. <u>Fuente</u>: (Keller, 2021)

Dentro de los impactos antropogénicos, se encuentra el <u>síndrome descompresivo</u> que afecta a gran variedad de vertebrados marinos. Este síndrome es un diagnóstico clínico que abarca una amplia variedad de manifestaciones relacionadas con la formación de burbujas de gas dentro de los tejidos sobresaturados después de la descompresión, y se

manifiesta en tortugas marinas cuando quedan atrapadas en redes de pesca (García-Párraga *et al.*, 2014). La captura incidental es un problema bien documentado a nivel mundial que resulta en una considerable mortalidad. Aproximadamente se informó que unas 85.000 tortugas marinas fueron capturadas incidentalmente en todo el mundo entre 1990 y 2008 (Wallace *et al.*, 2010).

Según la *Ley de Henry*, que hace referencia a la solubilidad de los gases en líquidos, la cantidad de gases respiratorios que se disuelven en el cuerpo aumenta proporcionalmente a la presión a la que están expuestos, como sucede durante el buceo. Esto implica que los buceadores experimentan constantemente un estado de mayor concentración de oxígeno y nitrógeno a medida que profundizan. Dado que el nitrógeno tiene una mayor afinidad por las grasas que por el agua, tiende a difundirse más hacia los tejidos con alto contenido de grasa, como el cerebro. La velocidad más baja de flujo sanguíneo en estos tejidos significa que, cuando hay cambios en la presión del entorno que resultan en un aumento de la solubilidad del nitrógeno, los tejidos ricos en grasa tardan más tiempo en saturarse debido a procesos de difusión simple, porque el nitrógeno tiene un coeficiente de difusión menor en estos tejidos (Lorenzo-Bermejo, 2018).

El uso de la radiografía para el diagnóstico del síndrome descompresivo en tortugas marinas ha sido documentado en la bibliografía. El síndrome descompresivo se manifiesta en tortugas marinas que quedan atrapadas en redes de pesca, lo que resulta en un colapso parcial de los pulmones y un aumento en su opacidad. Las proyecciones que realizaron los autores fueron DV, CC y LL, utilizando valores de exposición promedio entre 75 y 120 kVp y 7.2 a 20 mAs dependiendo de las proyecciones y siendo imprescindible tener en cuenta el peso del animal (Figura 13). Los hallazgos radiográficos se clasificaron como (García-Párraga *et al.*, 2014):

- *Embolismo leve*: una pequeña cantidad de gas solo era evidente en la región del riñón en la proyección radiográfica LL.
- Embolismo moderado: un volumen más grande de gas visiblemente notable en las proyecciones LL y DV en la región del riñón. También se pueden apreciar

contenido gas en pequeñas estructuras vasculares en la periferia de la cavidad celómica, pudiendo ser visibles en el hígado, con la utilización de la proyección DV.

 Embolismo grave: el gas se identifica de forma evidente en el riñón, el hígado, vasos sistémicos principales e incluso las cámaras cardíacas, mediante el uso de la proyección DV.



**Figura 13.** Imagen radiográfica DV de un caso de embolismo gaseoso sistémico grave. Se observa la delimitación del lumen de la aurícula derecha (RA), y la aurícula izquierda (LA), seno venoso (SV), y los vasos principales por la presencia masiva de gas intraluminal. Se visualizan los vasos hepáticos y renales con contenido gas. RP/LP: precavas derecha/izquierda; HV: venas hepáticas; PC: postcava; H: sistema venoso hepático; MC: vena marginocostal. <u>Fuente</u>: (García-Párraga *et al.*, 2014)

En la evaluación del **aparato respiratorio** se debe tener en cuenta no solo los pulmones, sino las vías aéreas altas. En una proyección LL normal, los pulmones deben representar entre el 30-50% de la altura de la cavidad corporal, y en una proyección CC o frontal, se debe evaluar la simetría de ambos lóbulos pulmonares. Cuando se evalúan las estructuras pulmonares en quelonios debe tenerse en cuenta que dichas estructuras difieren notablemente con respecto a los mamíferos. El parénquima pulmonar está atravesado por trabéculas musculares, a menudo separadas. Estas diferencias limitan el uso de la terminología clásica de patrones radiográficos pulmonares (alveolar, bronquial e intersticial). Además, la tráquea se bifurca más cranealmente, y su evaluación depende significativamente de la posición de la cabeza y el cuello del paciente. Entre los cambios diagnósticos más representativos observados en el tracto respiratorio se encuentran el estrechamiento de vías aéreas, aumento de la opacidad del parénquima focal o difusa y, raramente, cuerpos extraños (Junghanns *et al.*, 2011; Fazio, 2021).

Sin embargo, la radiografía **cardiaca** presenta limitaciones en pacientes quelonios dado que el corazón se encuentra en la línea media ventral, donde se cruzan las placas humerales, pectorales y abdominales del plastrón. A esto se le suma que el corazón presenta una radiopacidad similar a la de los tejidos adyacentes. Por lo que, debido a la alta superposición de estructuras y la falta de contraste entre ellas, la radiografía no sería una técnica ideal para su correcta evaluación (Kik y Mitchell, 2005).

Del mismo modo, la evaluación radiográfica del **aparato reproductor** de los quelonios es muy limitada, pudiendo a veces ser visible en época de reproducción activa. Las proyecciones que proporcionan más información son DV, CC y LL. La falta de grasa celómica entre las vísceras, limita en gran medida la diferenciación de ovarios, folículos o testículos, especialmente en estas especies. Los ovarios son alargados, se encuentran en la cavidad celómica, craneal a los riñones variando su tamaño con la actividad reproductiva. En las hembras reproductivamente activas que contienen folículos maduros, los ovarios ocupan una gran parte del celoma (Junghanns *et al.*, 2011; Fazio, 2021).

Por otro lado, los huevos con cáscara mineralizada se pueden definir radiográficamente, aunque la superposición a veces puede dificultar la visualización de huevos no tan mineralizados, pudiéndose confundir con quistes foliculares. Los huevos en el oviducto pueden reconocerse como estructuras de tejido blando redondas u ovaladas, aunque en las primeras etapas del desarrollo pueden ser difíciles de identificar antes de que la

mineralización sea completa. Los huevos normales pueden ocupar una gran cantidad de espacio en la cavidad celómica, provocando un desplazamiento de los órganos internos visible en radiografías (Rivera, 2008; Gumpenberger, 2017).

La radiografía también es una técnica útil para valorar hallazgos comunes en el **aparato urinario** de los quelonios, como urolitos o cistolitos. No obstante, la evaluación de los riñones es limitada con esta técnica, a no ser que presenten un considerado aumento de tamaño o de opacidad, pudiendo ser indicio de infección, nefrocalcinosis, gota, degeneración o, menos probable, neoplasia (Fazio, 2021) (Figura 14). Dado que la vejiga urinaria puede alcanzar un gran tamaño, las litiasis a menudo se observan en el centro de la cavidad celómica (Junghanns *et al.*, 2011). Asimismo, la radiografía se ha usado para valorar cambios de llenado o huevos ectópicos en la vejiga urinaria. Si la vejiga urinaria está muy distendida se observará una estructura tejido blando que desplaza el digestivo cranealmente, comprimiendo además el parénquima pulmonar. Mientras que, si presenta una vejiga vacía, se debe comprobar si existe historial de traumatismos recientes, pudiéndose tratar de una ruptura de la misma. También se ha reportado el uso de contraste por cistografía para valorar la vejiga urinaria en tortugas (Schmidt *et al.*, 2020).



**Figura 14.** Radiografía dorsoventral de una *Geochelone sulcata*, con un urolito en vejiga urinaria (estrella), nefromegalia (flechas), y gota. <u>Fuente</u>: (Schmidt *et al.*, 2020)

Por otra parte, existen publicaciones que han enfocado sus investigaciones en estudiar la **anatomía** normal de las distintas regiones del cuerpo de las tortugas utilizando la radiografía. Autores han reportado la apariencia radiográfica cervical y celómica normal de la tortuga boba (*Caretta caretta*), en vista DV, junto con otros puntos de referencia útiles, para permitir la correlación de las escamas del caparazón con las estructuras anatómicas internas (Figura 15) (Valente *et al.*, 2006). Sin embargo, los autores coinciden en la dificultad de obtener imágenes de calidad de la cavidad celómica debido al caparazón que presentan estos pacientes (Valente *et al.*, 2006). Un ejemplo de ello es la limitación en la radiología cardiaca, donde el corazón no puede visualizarse debido a que está superpuesto a otros órganos viscerales y enmascarado por el caparazón (Schilliger, 2022). También se ha reportado descripciones anatómicas por radiografía de las extremidades de la tortuga boba y de la tortuga de caparazón blando del Éufrates (*Rafetus euphraticus*) en condiciones normales (Valente *et al.*, 2007a; Ahranjani *et al.*, 2016).



**Figura 15.** Radiografía DV de tortuga boba subadulta (*Caretta caretta*). Los números romanos indican las vértebras dorsales respectivas. 1: bronquio; 2: epiplastrón; 3: vasos sanguíneos pulmonares; 4: hueso coracoides; 5: escápula; 6: acromion; 7: área de alta radiodensidad debido a la superposición de estructuras óseas. <u>Fuente</u>: (Valente *et al.*, 2006)

## Radiografía en Lagartos

Si bien los reptiles escamosos no presentan la dificultad añadida del caparazón, existen otros desafíos en la radiografía de estos pacientes. Entre ellos, destaca el bajo contraste inherente de la cavidad celómica, atribuido a la escasa cantidad de grasa alrededor de las vísceras. La grasa entre las superficies serosas proporciona contraste radiográfico entre diferentes estructuras opacas de tejido blando (Gumpenberger, 2017). Por otro lado, algunos de estos pacientes pueden contar con densas escamas u osteodermos cutáneos que, al presentar depósitos minerales, dificultarán la visualización de estructuras internas en diferentes grados (Lemm y Alberts, 2011).

En los estudios radiológicos, es sumamente importante el posicionamiento correcto del paciente para obtener imágenes lo más contrastadas y precisas posibles de las regiones a evaluar. Las proyecciones estándar para el examen radiográfico de los lagartos son DV y LL. La proyección mas adecuada para evaluar los sistemas digestivo, urogenital, musculoesquelético y la región cefálica, es la proyección DV. La proyección LL, además, permite la evaluación del aparato respiratorio. Al igual que en quelonios, resulta más conveniente que el equipo permita posicionar el tubo de rayos X en haz horizontal, lo que ayuda a preservar la apariencia normal de las estructuras celómicas, al tiempo que disminuye el estrés del paciente al requerir una menor manipulación para lograr la posición LL adecuada (Hernandez-Divers y Garner, 2003).

Por otro lado, se debe tener en cuenta que el área de examen no se vea afectada por las extremidades, y en ese caso se extenderán las anteriores cranealmente, si lo que se pretende es evaluar el corazón y los pulmones (cavidad celómica craneal), mientras que la extensión de las mismas caudalmente será necesaria para examinar la región cefálica y el cuello. Por el contrario, si se desea evaluar la cavidad celómica caudal, las extremidades anteriores deberán extenderse cranealmente, y las posteriores

caudalmente evitando así posibles artefactos de superposición. Éstas se pueden sujetar manualmente o utilizar vendas, cuerdas o esparadrapo (Junghanns *et al.*, 2011; Ludewig *et al.*, 2012).

Los lagartos pueden ser radiografiados mientras están despiertos, siempre y cuando lo permitan. En algunos casos, se ha reportado que aplicar una ligera presión sobre los ojos cerrados puede inducir una respuesta vasovagal en lagartos, especialmente en iguanas, quedándose inmóviles (Holmes y Divers, 2019c; Fazio, 2021). También se pueden usar tubos radiotransparentes que mejoran el posicionamiento, siempre que no interfieran con el área de interés y/o dificulten la interpretación de las imágenes. Se debe prestar especial atención a la hora de evaluar especies de lagartos que presenten una piel muy sensible, como los gekkos, ya que movimientos defensivos repentinos pueden causar lesiones en la piel, donde expertos recomiendan un contacto manual mínimo. Asimismo, si se necesita radiografiar la cola, en ningún caso se debe sujetar o atar ya que muchas especies son capaces de autotomía. Para lo cual, en su lugar, se fijaría el extremo frontal del animal (Junghanns *et al.*, 2011). Los parámetros usados en estudios de abdomen de mamíferos pequeños, se pueden emplear para estudios radiográficos de lagartos pequeños. Los utilizados para estudios de abdomen de gatos, o perros de tamaño medio, para las especies más grandes (Gumpenberger, 2021).

Los estudios radiológicos de los pacientes escamosos se realizan generalmente en casos de traumatismos o fracturas patológicas, problemas musculoesqueléticos, gastrointestinales, cardiorrespiratorios, urinarios y reproductivos (Wilkinson, 2021).

Las radiografías del **sistema musculoesquelético** suelen centrarse en evaluar anomalías asociadas con fracturas debido a traumatismos, o la enfermedad más común diagnosticada en los reptiles, la enfermedad ósea metabólica. Para evaluar la densidad ósea en lagartos, se examinan radiográficamente las extremidades, donde los huesos largos deben ser visibles y tener una buena diferenciación corticomedular. Las radiografías también pueden revelar deformidades angulares de los huesos largos, mandíbula e inflamación de los tejidos blandos circundantes. La deficiencia de calcio en animales jóvenes provoca trastornos en el metabolismo óseo que conducen a un

engrosamiento de la corteza, mientras que en adultos induce un adelgazamiento y descalcificación (Klaphake, 2010; Banzato *et al.*, 2013a; Music y Strunk, 2016).

Por otro lado, en las radiografías musculoesqueléticas pueden observarse presencia de mineralizaciones en tejidos blandos y/o procesos osteolíticos, éstos últimos sobre todo debido a infecciones, pudiendo afectar a las articulaciones. Además, la fusión de la columna vertebral ocurre con bastante frecuencia en lagartos, también como consecuencia de enfermedades infecciosas o degenerativas (Klaphake, 2010; Junghanns *et al.*, 2011).

Por otro lado, la recuperación ósea en reptiles difiere de la observada en otros vertebrados. Mientras que los mamíferos suelen mostrar una respuesta perióstica significativa ante una fractura, la mayoría de los reptiles presentan una reacción perióstica más sutil. La inexperiencia clínica podría malinterpretar una respuesta de curación ósea normal como una fractura lítica o que no cicatriza. Para asegurar que una fractura se esté curando de manera apropiada, se deben realizar radiografías seriadas cada 6-8 semanas (Mitchell, 2002).

Las radiografías del **tracto gastrointestinal**, con o sin contraste, aportan información significativa. Los problemas gastrointestinales pueden ser <u>primarios</u>, incluyendo infecciones, cuerpos extraños, neoplasias, torsión u obstrucción; o <u>secundarios</u>, como trastornos metabólicos, deshidratación, enfermedad cardíaca, neoplasia y ovostasis (Music y Strunk, 2016). La impactación gastrointestinal suele ser evidente radiográficamente como una acumulación anormal de alimentos o material de sustrato con la consiguiente distensión del sistema digestivo (Figura 16). La distensión abdominal crónica puede ser el resultado de un íleo mecánico o funcional y, radiográficamente se observa como una acumulación anormal de gas en el sistema digestivo (Silverman, 2006).



**Figura 16.** Radiografía DV de una iguana verde con impactación gastrointestinal secundaria a la ingestión de sustrato de cama (arena). <u>Fuente:</u> (Banzato *et al.*, 2013a)

La radiografía, también, es una técnica útil en la detección de enfermedades del **aparato respiratorio** en lagartos. Si bien hay que tener en cuenta que los pulmones de estos pacientes presentan estructura en forma de sacos o cámaras individuales, pudiendo extenderse caudalmente en un saco aéreo sin vascularización, y que, en algunas especies, ocupa la mayor parte de la cavidad celómica. Los signos clínicos respiratorios suelen cursar con descarga nasal y ocular, acompañado de rinitis, conjuntivitis y estomatitis. Además, abscesos bacterianos en la cavidad oral pueden generar efecto masa y, por tanto desplazamiento de la glotis generando una disnea severa (en lagartos herbívoros, la glotis se encuentra caudal a la base de la lengua, mientras que en carnívoros se encuentra rostralmente). A menudo, también puede cursar con estornudos frecuentes con descarga mucosa, o abscesos periorbitales en lagartos con infecciones crónicas (Schumacher, 2003, 2011; Gumpenberger, 2021). Por el contrario, la utilidad de la radiografía en la **cardiología** en la mayoría de estas especies se ve reducida por las características anatómicas que limitan la penetración de los rayos X, dado que el corazón se encuentra superpuesto a la cintura pectoral ósea; así como la falta de parámetros de referencia estándar. No obstante, en los varanos sí es posible su evaluación mediante esta técnica, ya que el corazón se encuentra más caudal en la cavidad celómica craneal. En estos exámenes, se deben evaluar también los grandes vasos además del corazón, dado que a menudo se observa mineralización secundaria a hipervitaminosis D u otras alteraciones metabólicas (Kik y Mitchell, 2005; Holmes y Divers, 2019c; Schilliger, 2022).

Los exámenes radiográficos del **aparato urinario** de los lagartos proporcionan información muy útil. Las litiasis dentro de la vejiga urinaria son hallazgos comunes en estas especies y, a menudo, se diagnostican mediante radiografía simple (Silverman, 2006). Anatómicamente, los riñones de los lagartos están parcial o completamente contenidos dentro del canal pélvico (celoma dorso-caudal, lateral a la columna lumbar). Por el contrario, en varanos, los riñones se encuentran en el celoma caudal medio. Debido a la localización que presentan en ambos casos, las radiografías a menudo no son satisfactorias, por la gran superposición de estructuras en esta región (Schmidt *et al.*, 2020). Si los riñones se encuentran agrandados, a menudo sobresalen del canal pélvico y pueden volverse visibles en el examen físico como una masa de tejido blando en la parte más caudal de la cavidad celómica, pudiendo generar efecto masa que provoca estreñimiento o distocia (Banzato *et al.*, 2013a).

Las imágenes radiográficas son útiles en el diagnóstico de algunos trastornos del **tracto reproductivo** de los lagartos. Por lo general, las vistas DV y LL proporcionan información suficiente. Los testículos en lagartos no pueden visualizarse dado que sólo pueden diferenciarse adecuadamente cuando están rodeados de gas o grandes cantidades de grasa, aunque en temporada de reproducción pueden aumentar su tamaño. No obstante, las alteraciones patológicas son raras y suelen deberse a enfermedades neoplásicas. Los folículos y los huevos pueden diferenciarse como estructuras de opacidad tejido blando de forma redonda u ovalada, con fino borde mineral que se acumulan de manera similar a un racimo de uvas, pudiendo extenderse hasta la región

del corazón. Las cáscaras bien mineralizadas permiten contar los huevos o proporcionar información adecuada sobre su posición mediante la radiografía (Gumpenberger, 2017). En algunos varánidos, se ha reportado la presencia de mineralizaciones en los hemipenes: hemibacula. Se trata de estructuras terminales de soporte para la inserción del músculo retráctil, que son visibles radiográficamente siendo útiles para la determinación del sexo (Böhme y Ziegler, 2009). Por otro lado, se ha documentado el uso de la radiografía de contraste para la identificación del sexo de manera efectiva en escincos de lengua azul (*Tiliqua scincoides scincoides*) (McKenzie *et al.*, 2022).

**Anatómicamente**, la radiografía se ha utilizado para la descripción de diferentes regiones en lagartos. Así, autores han descrito la anatomía normal de la cabeza de la iguana verde (*Iguana iguana*), dragón barbudo (*Pogona vitticeps*), tegu común (*Tupinambis teguixin*), y gekko leopardo (*Eublepharis macularius*) (Banzato *et al.*, 2012). Asimismo, en la literatura se reportan características radiográficas y anatómicas de la cavidad celómica de la iguana verde (Silverman, 2006), y del tracto digestivo del dragón barbudo mediante radiografía con contraste oral (Figura 17), y necropsia (Mathes *et al.*, 2019).



**Figura 17.** Radiografía LL de dragón barbudo posterior a la administración oral de contraste. El medio de contraste ilustra la orofaringe (1), el esófago (2), y el estómago (3). <u>Fuente:</u> (Mathes *et al.*, 2019)

# Ecografía

En 1880, los hermanos Jacques y Pierre Curie hicieron un descubrimiento revolucionario al observar los efectos piezoeléctricos de ciertos cristales. Descubrieron que estos cristales generaban una polarización eléctrica cuando se les aplicaba una tensión mecánica (Curie y Curie, 1880). Pronto, este descubrimiento se aplicaría a fines bélicos durante la Segunda Guerra Mundial, en forma de SONAR (*Sound Navigation and Ranging*), para la detección de barcos, submarinos y aviones militares, mediante la vibración de los cristales sometidos a corriente eléctrica que generan ondas ultrasónicas que se emiten y se reciben posteriormente al chocar con objetos a su paso (Giraldo E., 2003).

Aunque su aplicación inicial en el campo de la medicina fue limitada, sentó las bases para el posterior desarrollo de la ecografía. En 1930 y 1940, se comenzaron a utilizar técnicas de ultrasonido en medicina para la detección de tumores cerebrales, cálculos, cuerpos extraños, imágenes bidimensionales en vivo de diferentes partes del cuerpo, estudio del flujo sanguíneo mediante el *Doppler*, hasta la introducción del ultrasonido a color en tiempo real (Newman y Rozycki, 1998). En el campo de la medicina veterinaria, la primera referencia encontrada data de 1956 en la que la ecografía fue usada como método de estimación del espesor de la grasa en bovinos vivos (Stouffer, 2004). Posteriormente, su uso ha seguido expandiéndose con el tiempo y los avances tecnológicos (King, 2006; Gilman y Wolf, 2007), convirtiéndose en la técnica de elección de la imagen abdominal, dado que permite una mejor definición de las lesiones identificadas previamente en radiografías o descubrir otras lesiones que con esta técnica no eran visibles (Mattoon y Bryan, 2013).

# Principios físicos

La ecografía utiliza ondas de ultrasonido de alta frecuencia, por encima del rango de audición humana, para crear imágenes del interior del cuerpo. Estas ondas se generan con un transductor, que emite pulsos de ultrasonido y recibe los ecos que se producen al interactuar con los tejidos. La reflexión de las ondas en las interfaces entre diferentes tejidos permite obtener información sobre la anatomía y características de los tejidos (Drost, 2018).

#### Parámetros de adquisición de las imágenes

Para generar imágenes de calidad, es necesario tener en cuenta varios parámetros y técnicas durante la adquisición de la imagen ecográfica. Estos incluyen la <u>frecuencia de las ondas de ultrasonido</u>, la <u>potencia del pulso</u>, la <u>amplitud</u>, el <u>enfoque</u>, la <u>ganancia</u> y la <u>velocidad de muestreo</u>. Cada uno de estos parámetros afecta la calidad de la imagen y debe ajustarse adecuadamente según las características del tejido y la región de estudio. Para la mejor evaluación de ultrasonografía de reptiles, los transductores de alta resolución o sondas lineales (7.5-10 MHz), proporcionan el mejor detalle y calidad de imágenes para facilitar el diagnóstico. Los transductores siempre deben resultar cómodos para el clínico (Valente *et al.*, 2007b).

#### Ventajas e Inconvenientes

Al igual que la radiografía, se trata de una técnica de diagnóstico por imagen no invasiva que permite al clínico valorar estructuras orgánicas en tiempo real. Sin embargo, al contrario de ésta, la ecografía presenta un detalle y una sensibilidad superior para la evaluación de tejidos blandos. Por otro lado, facilita la extracción de muestras diagnósticas guiadas, como biopsias y aspirados, tanto de órganos, masas y fluidos, siempre que se evalúen en conjunto los posibles riesgos asociados a este procedimiento, como la perforación de órganos y la hemorragia (Prasad *et al.*, 2021).

Se debe destacar que los resultados de la ecografía dependen de la experiencia y las habilidades del clínico. Por tanto, no se trata de una técnica equipo-dependiente, dado que se precisan equipos que presenten una buena definición, sino operario-dependiente, puesto que la obtención de imágenes diagnósticas va ligada a la familiarización del clínico que realiza el estudio, tanto con el equipo como con la anatomía de la especie a examinar (Christman *et al.*, 2017).

# Ecografía en Reptiles

La ecografía en reptiles se ha vuelto cada vez más frecuente en la práctica veterinaria debido a sus ventajas, consolidándose como una herramienta diagnóstica de gran relevancia en la clínica de estos pacientes. A menudo, se utiliza de manera complementaria a la radiografía para obtener información adicional valiosa (Gumpenberger, 2017). Sin embargo, en ciertos casos, la ecografía puede ser la modalidad de imagen principal. A pesar de sus beneficios, el estudio ecográfico de reptiles presenta desafíos significativos debido a las características morfológicas distintivas de estos animales, como el caparazón, las escamas y los osteodermos, que pueden dificultar el abordaje ecográfico y dar lugar a imágenes artefactuales que afectan la calidad diagnóstica del estudio (Schumacher y Toal, 2001). Además, la presencia de gas en pulmones y en tracto gastrointestinal, o la presencia de ingesta, también pueden generar artefactos de reverberación, limitando la evaluación de estructuras más profundas. Por lo que, no todas las estructuras celómicas serán visibles ecográficamente en todos los reptiles (Fazio, 2021).

Existen pocas publicaciones disponibles de imagen por ecografía de reptiles que proporcionen el tamaño o la ecogenicidad normal de las estructuras internas. Si bien, hay autores que recomiendan la evaluación del órgano contralateral para evaluar las estructuras celómicas en busca de asimetrías en especies de las que no se dispone de valores de referencia (Christman *et al.*, 2017).

# Ecografía en Quelonios

Los quelonios son los reptiles en los que resulta más difícil realizar un examen ecográfico debido a la barrera física impuesta por la presencia del caparazón y plastrón. Además, las partes del cuerpo que no están cubiertas por estas estructuras se encuentran limitadas internamente por los huesos del extremo proximal de las extremidades que dificultan su exploración. La ecografía permite visualizar los órganos que no pueden ser palpados o fácilmente observados radiográficamente (Wilkinson *et al.*, 2004). No obstante, algunos autores han empleado abordajes ecográficos en las regiones cervical dorsal y ventral, cervicobraquial, axilar, prefemoral y postfemoral en tortugas *Caretta caretta*. En especies de caparazón blando, se puede abordar también a través del caparazón (Valente *et al.*, 2007b; Pease *et al.*, 2010; Gumpenberger, 2017).

En cuanto a los abordajes ecográficos, el <u>abordaje cervicobraquial</u> permite la visualización de la glándula tiroides, el corazón, partes del hígado, vesícula biliar, y el estómago; mientras que con el <u>abordaje prefemoral</u> se accede la vejiga, las gónadas, oviducto, y los riñones. Por otro lado, mediante el <u>abordaje axilar</u>, también se puede visualizar el hígado, el corazón y los músculos pectorales, si bien es una ventana más restrictiva en la mayoría de los quelonios (Figura 18) (Wilkinson *et al.*, 2004).



Figura 18. Abordajes ecográficos en tortuga boba. <u>Fuente</u>: (Valente *et al.,* 2007b)

Para realizar estudios ecográficos a quelonios de pequeño tamaño (hasta 5 kg), el empleo de transductores de altas frecuencias comprendidas entre 7-12 MHz, han demostrado buena profundización en los tejidos, mientras que para el examen de especies más grandes, serán necesarios transductores entre 2,5-5 MHz (Schifino Valente, 2007; Gumpenberger, 2017). En la mayoría de los casos, el gel de acoplamiento se puede aplicar. Si esto no es posible, el paciente puede sumergirse parcialmente en un baño de agua (Fazio, 2021).

La ecografía en quelonios se utiliza, sobre todo, para la monitorización del estado reproductivo y determinación del sexo, identificando testículos u ovarios, si bien en individuos subadultos, las gónadas subdesarrolladas pueden confundirse con el parénquima renal (Valente *et al.*, 2007b; Rivera, 2008). La visibilidad de los folículos o huevos no solo depende del tamaño de la ventana ecográfica inguinal, sino también del contenido de asas intestinales y, especialmente en individuos más grandes, de la cooperación del paciente.

Se ha reportado en la literatura el uso de la ecografía como herramienta no invasiva para medir el espesor de grasa subcutánea en tortugas laúd (*Dermochelys coriacea*) (Harris *et al.*, 2016).

Existen publicaciones que han realizado evaluaciones morfológicas y estructurales del ojo en tortugas marinas, que describen las características ecográficas oculares y los detalles anatómicos útiles en la práctica clínica de estas especies (Muramoto *et al.*, 2020).

En relación con las lesiones de origen humano, se ha registrado la aplicación de la ecografía en el diagnóstico de tortugas marinas con <u>síndrome descompresivo</u>. Los estudios ecográficos han identificado la presencia de burbujas de gas, manifestadas como áreas hiperecoicas con artefactos de cola de cometa. En los individuos afectados, la exploración ecográfica renal ha evidenciado la existencia de gas en el parénquima y los vasos sanguíneos del riñón (Figura 19). Además, la ecocardiografía ha revelado una mayor prevalencia de burbujas en la aurícula derecha en comparación con la izquierda,

emulando el patrón observado en buceadores que utilizan escafandra autónoma. El examen ecográfico se realizó utilizando sondas lineales comerciales, de fase y microconvexas. Los hallazgos ecográficos se clasificaron siguiendo la misma jerarquía que los hallazgos radiográficos descritos anteriormente (García-Párraga *et al.*, 2014):

- *Embolismo leve*: pequeña cantidad de gas evidente a nivel renal.
- *Embolismo moderado*: mayor volumen de gas en región renal. Presencia de burbujas de gas en los lúmenes de los vasos principales y cámaras cardíacas (principalmente la aurícula derecha).
- Embolismo grave: gran presencia de gas en riñón, causando imágenes artefactuales. Abundante cantidad de burbujas en el torrente sanguíneo y acumulación de gas en las cámaras cardiacas y grandes vasos.



**Figura 19.** Ecografía renal de tortuga con embolismo gaseoso sistémico moderado, en fosa prefemoral izquierda con orientación ventrolateral. Se observa la presencia de gas intraluminal en vasos renales: puntos hiperecoicos con artefactos de cola de cometa (flecha azul larga). Se visualizan pequeñas burbujas de gas de forma aleatoria a nivel del parénquima renal (flechas blancas cortas). Las flechas amarillas muestran el margen renal. <u>Fuente</u>: (García-Párraga *et al.*, 2014)

En la misma línea, el uso de la ecografía *Doppler* flujo en color se ha documentado para buscar flujo sanguíneo venoso y arterial activo con el fin de valorar la viabilidad de las extremidades comprometidas en tortugas con lesiones lacerativas en casos de enmallamientos con redes de pesca (Boots *et al.*, 2022).

# Ecografía en Lagartos

La naturaleza escamosa de la piel de estos pacientes puede generar artefactos debido a la captura de aire entre las escamas y el gel de acoplamiento. Es por este motivo que especialistas recomiendan dar a los lagartos de escamas gruesas un baño tibio antes del estudio ecográfico y utilizar generosas cantidades de gel de acoplamiento, o incluso realizar el estudio con el animal sumergido con el fin de mejorar la calidad de la imagen. Es importante distribuir el gel entre las escamas para reducir la pérdida de detalles asociada a las burbujas de aire atrapadas (Fazio, 2021).



**Figura 20.** Examen ecográfico mediante abordaje ventral en un dragón barbudo. <u>Fuente</u>: (Divers y Stahl, 2018)

Los principales abordajes en un estudio ecográfico en estos pacientes son el <u>ventral</u>, el <u>renal</u> (desde la pared dorsal del cuerpo), y el <u>cardíaco</u> (desde la región craneal o axila). El abordaje ventral es el principal (Figura 20), dado que es el que permite la evaluación de la mayor parte de las vísceras celómicas (Junghanns *et al.*, 2011; Prades *et al.*, 2013b; a).

Al igual que en quelonios, la ecografía en lagartos es una técnica útil para evaluar el estado reproductivo. Se puede abordar la cavidad celómica desde múltiples puntos, teniendo en cuenta que algunas especies tienen pulmones y sacos aéreos extensos que interferirán con este tipo de imagen. Algunos autores han reportado que, en estos casos, colocar al animal en decúbito supino y aplicando una cantidad abundante de gel, se puede realizar un buen abordaje ecográfico (Gilman y Wolf, 2007; Rivera, 2008).

Las cáscaras bien mineralizadas causan sombreado distal, según la especie y el grado de mineralización, por lo que la estructura interna del huevo ya no puede diferenciarse. Por lo tanto, el uso de esta técnica no permite contar los huevos. Sin embargo, se ha reportado mediante ecografía, la detección del latido cardíaco fetal en reptiles lagartos. En ecografía, se observa que los testículos son ligeramente a moderadamente hipoecoicos en comparación con los riñones, una característica que varía según la especie y el equipo utilizado. Son homogéneos y finamente granulados. El derecho puede estar posicionado un poco más craneal que el izquierdo. Por otra parte, los abordajes por ventral y dorso-caudal son los más apropiados para visualizar las estructuras del tracto urinario (Gumpenberger, 2017; Schmidt *et al.*, 2020).
# Tomografía Computarizada

La TC representa uno de los avances más significativos en el diagnóstico por imagen. Los primeros estudios realizados en humana se realizaron en 1972, y en la década de los 80 en veterinaria, permitiendo la representación de la **anatomía normal** y la **visualización de procesos neoplásicos cerebrales** en **perros** (Fike *et al.*, 1981).

Inicialmente, los estudios tomográficos en animales se centraban predominantemente en las enfermedades del sistema nervioso central. Sin embargo, en la actualidad, estas aplicaciones se han ampliado considerablemente, abarcando el estudio de diversas regiones anatómicas y contemplando una gran variedad de especies animales. Esta expansión refleja la creciente utilidad y versatilidad de la tomografía en el campo de la medicina veterinaria, permitiendo una evaluación más integral y detallada de la anatomía y las patologías en diferentes contextos clínicos. Por esta razón, cada vez más centros incorporan equipos de diagnóstico por imagen avanzados, como la TC, mejorando significativamente los diagnósticos y ampliando el conocimiento anatómico, al permitir un acceso más preciso a las estructuras internas (Greco *et al.*, 2023).

# Principios físicos

La TC, se basa en la emisión de radiación ionizante por un tubo de rayos X, a la vez que gira alrededor del paciente (360°). Dicha radiación atraviesa al paciente y es recibida por una serie de detectores, los cuales generan señales variables que son trasmitidas a un ordenador. Cada obtención de radiación se corresponde con una localización particular del tubo de rayos X. Para cada proyección, los detectores miden la radiación transmitida, y ese conjunto de mediciones constituyen un perfil de diferentes atenuaciones, a partir de los cuales se forma una sección transversal (corte). Cada corte se divide en una matriz formada por elementos de volumen llamados vóxeles. El vóxel es la unidad mínima, y representa una región específica del paciente. Cada vóxel ha sido atravesado por radiación de diferente intensidad, y, por tanto, tendrá un valor de atenuación específico dependiendo del tejido. Finalmente, la imagen en dos dimensiones estará constituida por píxeles con diferentes valores dependiendo también del grado de atenuación de la

radiación. Estos valores se transforman en unidades de *Hounsfield* (UH), o números de TC, ajustados en relación con los valores de vóxel que contienen agua ( $\mu$ w). Las UH para otros tejidos se calculan a partir de la siguiente ecuación:

$$UH_{tejido} = [\mu_{tejido} - \mu_w] \cdot 1000$$

Según esta fórmula, el valor UH del agua pura es igual a cero, y cualquier estructura o tejido que cause una mayor atenuación de rayos X tendrá un valor de UH positivo, mientras que cualquier estructura o tejido que cause una menor atenuación de rayos X que el agua tendrá un valor de UH negativo. El hecho de que los líquidos y los tejidos blandos se puedan discriminar en función de sus valores de UH confirma la mayor resolución de contraste de la TC en comparación con la radiografía (Figura 21) (Bushberg *et al.*, 2003; Saunders y Ohlerth, 2011).



**Figura 21.** Correlación entre las densidades tomográficas y composición del derrame pericárdico. A: escala de densidades de UH; B-E: planos transversales de TC de pacientes humanos con derrame pericárdico con diferentes medidas utilizando la herramienta de región de interés (ROI), siendo en B la densidad de tejido adiposo, en C de trasudado, en D de exudado y en E de densidad hemática. Fuente: (Saidman *et al.*, 2022)

#### Parámetros de adquisición de las imágenes

El estudio de los parámetros del TC puede ayudar a optimizar la calidad de la imagen y la dosis de radiación. Por un lado, la **corriente del tubo** se corresponde con el número de fotones de rayos X utilizados (mA), y el mAs es el producto de la corriente por unidad de tiempo. Existe una relación inversamente proporcional entre el mAs y el ruido, por lo que, altos valores de mAs, reducen el ruido en la imagen. Por otro lado, el **kilovoltaje** controla esencialmente la penetración y el contraste, de modo que reducciones del kilovoltaje mejorarán el contraste, pero también disminuirán la penetración del haz. Ambos parámetros contribuyen al calentamiento del tubo de rayos X.

Otros parámetros a tener en cuenta son el **grosor de corte**, siendo uno de los parámetros más importantes a seleccionar en un estudio de TC, el *pitch factor* y el **intervalo de reconstrucción**. El grosor del corte y la colimación deben ajustarse al examen deseado. Por lo general, se utiliza un grosor de corte de entre 1 y 2mm. El *pitch factor* se define como la interacción del paciente en movimiento a lo largo del gantry, o dicho de otra manera, es el desplazamiento de la camilla durante una rotación completa de 360°, y viene representado por la proporción entre esa distancia en milímetros (mm) y el espesor establecido por el colimador. El intervalo de reconstrucción ajusta la proporción de la imagen (Thrall, 2018).

La calidad de la imagen depende principalmente de la resolución de contraste, la resolución espacial y el ruido. La **resolución de contraste** es la capacidad de un sistema para representar con precisión las diferencias en las características tisulares, físicas y/o bioquímicas, que están intrínsecamente relacionadas con la atenuación de los rayos X. El contraste en la imagen depende del contraste subjetivo y del contraste de la pantalla. El <u>contraste subjetivo</u> es la diferencia de atenuación de una lesión (valor de UH), en relación a la atenuación los tejidos que la rodean, mientras que el <u>contraste de la pantalla</u> es modificable y depende del ancho y del nivel de ventana seleccionados (Thrall, 2018).

Por otro lado, la **resolución espacial**, corresponde a la habilidad de distinguir entre objetos de pequeño tamaño que se sitúan próximos en la imagen. Entre los factores que afectan a la resolución espacial se encuentran el grosor de corte, el *Field of View* o campo de visión (FOV), o el algoritmo de reconstrucción. Así, cortes más finos mejoran la resolución espacial (Thrall, 2018).

Finalmente, el **ruido** en TC consiste en fluctuaciones aleatorias de UH y depende del número de fotones de rayos X que crean la imagen. Si el número de fotones es alto, el ruido se reduce haciendo que aumente la relación S/R, lo que se traduce en una mejor resolución de contraste. Si, por el contrario, el número de fotones se reduce, obtendremos una imagen con mayor ruido y, por tanto, peor resolución de contraste (Thrall, 2018).

A partir de las imágenes de rayos X bidimensionales alrededor de una ROI y desde varios ángulos, la TC permite realizar reconstrucciones multiplanares (MPR) y tridimensionales, que facilitan no solo el examen de un área de interés, sino que también permiten realizar mediciones dimensionales, volumétricas y otras técnicas más avanzadas.

#### Técnicas de Renderización: Principios y Conceptos

La renderización es una técnica clave para mejorar la obtención de las imágenes 3D. Esta técnica **utiliza algoritmos informáticos para transformar datos de imágenes 2D en imágenes 3D**. Hay dos tipos principales de técnicas: basadas en el umbral (binarias), y basadas en el volumen (continuas). Ambas técnicas cuentan con tres pasos (Fishman et al., 2006):

- Formación de volumen: se crea una representación 3D a partir de datos 2D.
- Clasificación: se asignan colores a diferentes tejidos según sus niveles de atenuación.
- Proyección de la imagen: se generan imágenes 3D proyectando luz a través de los datos clasificados.

#### Técnicas basadas en el umbral (binarias)

En estas técnicas, se asignan rangos de atenuación a diferentes tejidos. Se establecen *"umbrales"* para definir los límites de los tejidos en función de su atenuación en los datos de la imagen. Los vóxeles se clasifican como un tipo de tejido si su atenuación se encuentra dentro del rango definido por estos umbrales. Cada tipo de tejido se representa con un color específico.

Esta técnica presenta limitaciones, especialmente cuando se trata de representar interfaces de tejidos mixtos. Puede generar artefactos, como áreas vacías de información en estructuras y contornos incorrectos, debido a la mezcla de volúmenes y al ruido introducido durante la exploración (Fishman *et al.*, 2006).

#### Técnicas basadas en el volumen (continuas)

A diferencia de las técnicas binarias, las basadas en el *volumen* utilizan una clasificación continua (porcentual). Estas técnicas permiten que cada vóxel represente múltiples tejidos con porcentajes variables. En lugar de asignar umbrales discretos, se examina cada vóxel para determinar la cantidad de cada tipo de tejido presente. Se asignan colores y regiones traslúcidas a cada tipo de tejido en función de estos porcentajes. Esta representación más detallada proporciona imágenes 3D más precisas y realistas, proyectando rayos de luz simulados a través del volumen de datos clasificados y coloreados (Figura 22).

La elección entre técnicas binarias y continuas impacta significativamente en la calidad y fidelidad de la representación tridimensional, siendo las **técnicas basadas en el volumen** las preferidas para obtener resultados más detallados y fieles a la realidad en el ámbito de la renderización en imágenes médicas (Fishman *et al.*, 2006).

# Proyección de Máxima Intensidad

La **Proyección de Máxima Intensidad** (MIP), es una técnica de renderización que, utiliza solo los vóxeles de mayor intensidad proyectada a lo largo de una línea a través del conjunto de datos para generar una imagen bidimensional. Tiende a haber mucha menos variabilidad en la reconstrucción de imágenes MIP que en la renderización de volumen (VR3D), debido a que se consideran menos parámetros. La mayoría de los métodos MIP utilizan solo parámetros de ventana (ancho y centro de la ventana, especificados en UH), y no color, opacidad ni sombreado (Figura 22). La capacidad de visualizar los píxeles más brillantes ayuda a definir estructuras más pequeñas, por lo que se ha utilizado para identificar estructuras vasculares, nódulos pulmonares y cálculos uretrales, mejorando las tasas de detección de anomalías en comparación con las imágenes transversales originales (Secrest *et al.*, 2017).

MIP	VR3D
Puede no representar con precisión las relaciones 3D, especialmente en imágenes con estructuras arteriales y venosas.	Muestra con precisión relaciones 3D.
Facilita la visualización de ramas vasculares más pequeñas con menos esfuerzo.	Permite la visualización detallada de anatomía vascular, así como tejido blando, músculo y hueso.
Más propenso a sobreestimar estrechamientos luminales y presentar problemas con calcificaciones en las paredes vasculares.	Proporciona una comprensión completa de procesos patológicos.
Menos parámetros ajustables, como ventanas, puede llevar a una variabilidad menor en la calidad de la imagen.	Posibilidad de visualización en color.

Tabla 3. Resumen de técnicas de post-procesado de imágenes MIP vs VR3D.

La elección entre VR3D y MIP depende del propósito clínico (Tabla 3). El VR3D ofrece una visión más completa y detallada, mientras que la MIP puede ser más eficiente para visualizar estructuras específicas (Fishman *et al.*, 2006).



**Figura 22.** Vistas dorsales en **VR3D** (A), y **MIP** (B), del cráneo de *Varanus komodoensis*. Cv1: primera vértebra cervical; Cv2: segunda vértebra cervical; Fr: hueso frontal; J: hueso yugal; L: hueso lacrimal; Mx: hueso maxilar; N: hueso nasal; Ost: osteodermos; P: hueso parietal; Pfr-Po: hueso postfrontal-postorbitario; Pmx: hueso premaxilar; Prf: hueso prefrontal; Pro: hueso proótico; Q: hueso cuadrado; San: hueso surangular; Sco: osificaciones escleróticas; Sm: septomaxila; So: hueso supraoccipital; Sq: hueso escamoso; V: hueso vómer. <u>Fuente</u>: (Pérez *et al.*, 2021a)

# Proyección de Mínima Intensidad

Sin embargo, la **Proyección de Mínima Intensidad** (MinIP), es una técnica de renderización que, como su propio nombre indica, utiliza solo los vóxeles de menor intensidad proyectada a lo largo de una línea a través del conjunto de datos para generar una imagen bidimensional. Con esta técnica se favorece la visualización y valoración de estructuras con contenido gas tales como el árbol traqueobronquial, el parénquima pulmonar (Figura 23), y sistema digestivo (Lee *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2019).



**Figura 23.** MinIP en paciente canino. Imagen cedida por el Servicio de Diagnóstico por Imagen del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.

# Ventajas e Inconvenientes

La ventaja más significativa de la TC frente a la radiografía convencional, es la supresión de la superposición de estructuras, proporcionando una mayor resolución de contraste entre ellas. Además, en las imágenes de TC se pueden detectar diferencias mucho menores en la atenuación en comparación con la radiografía, permitiendo diferenciar tejidos blandos de líquidos. Esto se explica por la eliminación de la dispersión que reduce el contraste de la imagen y por el uso de detectores de rayos X más sensibles en la TC. Por otro lado, la posibilidad de utilizar diferentes ventanas permite adaptar las imágenes según las estructuras a evaluar. También permite la posibilidad de generar reconstrucciones volumétricas y/o en diferentes planos, aportando una visión más amplia de cara a una planificación quirúrgica, u otros procedimientos médicos. La TC permite diferenciar los líquidos de los tejidos blandos, al igual que con la ecografía (20-30 minutos aproximadamente), los exámenes de TC se realizan en menor tiempo (2-5 minutos aproximadamente) (Kafka *et al.*, 2004).

La TC se considera una técnica ampliamente utilizada en la clínica diaria. No obstante, obtener imágenes de buena calidad no siempre es sencillo. La escala de grises depende del <u>coeficiente de atenuación lineal</u> (representa cuánto absorbe o dispersa cada tejido un haz de rayos X), y la densidad relativa de los tejidos atravesados por el haz. Establecer este coeficiente para cada paciente es complicado debido a la gran variabilidad en el tamaño de los pacientes, que van desde animales muy pequeños, como lagartos, hasta grandes animales, como cocodrilos o grandes varanos. Otro inconveniente lo representan los movimientos del paciente que causan artefactos, y, en consecuencia, una reducción de la calidad de la imagen. Por esta razón, para evitar cualquier movimiento y mantener la misma posición, los estudios de TC en animales requieren sedación o anestesia, lo cual no siempre es posible, si bien garantiza imágenes de buena calidad. Además, se requiere, en muchas ocasiones, de un control de la respiración e inducción de la apnea, dado que los movimientos respiratorios también pueden generar imágenes artefactuales. Lo mismo ocurre en casos donde se precise de la administración posterior de medios de contraste, donde no todos los pacientes son aptos para ello (Greco *et al.,* 2023).

Por otra parte, la demanda de tiempo y personal especializado, que incluye radiólogos, técnicos y anestesistas, se presenta como otro factor limitante. Además, el acceso de esta técnica está restringido, ya que requiere instalaciones específicas y seguras, así como una inversión económica significativa tanto para la instalación en sí misma como para el equipo y la contratación de profesionales calificados. Las limitaciones económicas de los propietarios también afectan la viabilidad de los estudios de TC. (Sharma y Wyneken, 2019; Greco *et al.*, 2023).

## Artefactos de TC

Los artefactos son anomalías en la imagen que pueden obstaculizar una interpretación precisa. Las imágenes obtenidas por TC presentan una mayor susceptibilidad a la presencia de artefactos en comparación con las radiografías convencionales, debido principalmente a que la imagen se construye a partir múltiples mediciones independientes (cortes). Los artefactos se pueden clasificar según la fuente de origen

en cuatro categorías: artefactos que surgen de los <u>procesos físicos</u> presentes en la obtención de datos de TC, artefactos originados por el <u>paciente</u> (movimiento o presencia de materiales metálicos en o sobre el mismo), artefactos producto de <u>imperfecciones</u> <u>del escáner</u>, y artefactos <u>helicoidales</u> y de múltiples secciones, generados durante el proceso de reconstrucción de la imagen (Barrett y Keat, 2004).

Artefacto de anillo: estructura concéntrica que aparece en todos los cortes causado por la falta de calibración o daño en alguno de los detectores, o en estudios con radiación insuficiente (Figura 24). Para evitarlo se recomienda calibración diaria de los detectores, un mantenimiento regular del equipo y un ajuste en la dosis de radiación según la región a examinar y las características del paciente (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



Figura 24. Plano coronal en ventana encéfalo con artefacto de anillo en paciente humano. <u>Fuente</u>: (Gwiazdowski *et al.*, 2021)

 Photon Starvation: reducción de contraste entre los tejidos y aumento de ruido debido a la retención de fotones en áreas de tejidos mas gruesos o de mayor atenuación que provoca una reducción de la cantidad de radiación que llega a los detectores (Figura 25). Para evitarlo se debe aumentar el miliamperaje, un adecuado posicionamiento del paciente, y hacer uso tanto de sistemas de modulación de dosis, como de *softwares* de reconstrucción iterativa de imágenes que reducen el ruido (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



**Figura 25.** Artefacto *photon starvation* en planos transversal y coronal en ventana hueso en paciente humano. <u>Fuente</u>: (Nico Sitja, 2014).

 Artefacto de endurecimiento del haz: se produce por los fotones de baja energía al atravesar estructuras de alta densidad, provocando focos de menor densidad a la real del tejido (Figura 26). Para evitarlo se propone aumentar el miliamperaje y posicionar adecuadamente al paciente (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



**Figura 26.** (1) Plano coronal en ventana encéfalo en paciente humano (Gwiazdowski *et al.*, 2021) (2) Plano transversal en ventana encéfalo de paciente canino (imagen cedida por el Servicio de Diagnóstico por imagen del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC).

 Artefactos metálicos: se observan como líneas claras y oscuras que parecen destellos alrededor de un objeto metálico (Figura 27). Es la conjunción de varios artefactos: endurecimiento del haz (líneas hipoatenuantes), artefacto entre dos centros de densidad extrema y artefacto de volumen parcial. Como solución se recomienda aumentar el miliamperaje, posicionar adecuadamente al paciente y reducir el grosor de corte o extraer la estructura que lo ocasiona (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



**Figura 27.** (1) Plano transversal en ventana hueso de extremidad posterior derecha en paciente humano con artefactos por la presencia de estructuras metálicas compatibles con munición (Sartori *et al.*, 2015). (2) Plano transversal en ventana tejido blando en paciente canino con artefacto por microchip. Imagen cedida por el Servicio de Diagnóstico por imagen del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.

Artefactos de movimiento: distorsión de la anatomía real con reducción de la resolución espacial debido a un registro y reconstrucción de las imágenes incorrecto (Figura 28). Para evitarlo se recomienda preparar previamente al paciente (sedación y anestesia), sincronización del examen con el ritmo cardiaco, reducción del tiempo de examen (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



**Figura 28.** Plano transversal en ventana pulmón de paciente canino con artefacto de movimiento secundario a taquipnea por grave neumotórax y atelectasia pulmonar difusa. Imagen cedida por el Servicio de Diagnóstico por imagen del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.

Artefacto de blooming: las estructuras de altas densidades pueden causar una mayor saturación de los vóxeles vecinos y un mayor efecto de volumen parcial lo que resulta en una "invasión" sobre las estructuras adyacentes (Figura 29). Suele presentarse en la base del cráneo a nivel de la protuberancia occipital. Como solución se recomienda ensanchar la ventana, usar filtros más agudos a expensas de un aumento de ruido, aumentar la resolución de la imagen y reducir el grosor de corte. (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



Figura 29. Plano transversal en ventana tejido blando (1), y fluoroscopia (2), en paciente humano con artefacto de *blooming* debido a calcificación

en la porción proximal de la arteria circunfleja izquierda. <u>Fuente</u>: (Pack *et al.*, 2022)

Artefacto por entrada de flujo: se produce a nivel de las venas axilares o subclavia en el TC de tórax con contraste intravascular, como consecuencia entre el corto intervalo entre la administración del contraste endovenoso y el comienzo de la adquisición de los datos (Figuras 30 y 32). Se reduce retrasando unos segundos el inicio del estudio.



**Figura 30.** Plano transversal en ventana tejido blando en paciente canino con artefacto por entrada de flujo. Imagen cedida por Servicio de Diagnóstico por imagen del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.

Artefacto de proyección incompleta: aparece cuando una parte del paciente se encuentra fuera del área de interés pero igualmente es escaneada (Figura 31). El software al no tener suficientes datos para reconstruir esa región, genera bandas espiculadas o artefactos de proyección incompleta. Se atenúa evitando que otras partes del organismo se interpongan entre el gantry y el área de estudio (Sartori *et al.*, 2015).



**Figura 31.** Plano transversal en ventana tejido blando en paciente canino con artefacto de proyección incompleta. Imagen cedida por Servicio de Diagnóstico por imagen del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.



**Figura 32.** Plano transversal en ventana tejido blando en paciente canino que presenta la combinación de dos artefactos: artefacto por entrada de flujo (cabeza de flecha), y de proyección incompleta (flecha). Imagen cedida por Servicio de Diagnóstico por imagen del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.

#### Tomografía Computarizada en Reptiles

A lo largo de esta revisión bibliográfica, uno de los factores limitantes que se repite entre las técnicas de diagnóstico por imagen convencionales se debe a la presencia de caparazones, escamas y estructuras superpuestas que dificultan la adquisición e interpretación de imágenes diagnósticas en pacientes reptiles mediante estas técnicas. No obstante, la introducción de la TC en la medicina de reptiles ha revolucionado la práctica diagnóstica y el estudio anatómico de éstos, permitiendo una mejor interpretación de las imágenes.

El análisis anatómico de los reptiles es esencial dada la amplia variabilidad morfológica interespecífica. La TC desempeña un papel crucial en esta tarea ya que no solo destaca por su alta resolución de contraste de los tejidos, sino que también permite realizar reconstrucciones en varios planos y en tres dimensiones, eliminando la superposición de estructuras, facilitando el estudio y la posterior descripción anatómica de una manera no invasiva. Este enfoque proporciona información valiosa, especialmente en el campo de la osteología y su relación con los tejidos blandos adyacentes, contribuyendo significativamente a la comprensión y visualización detallada de la anatomía de los reptiles.

#### Tomografía Computarizada en Quelonios

La TC supera las limitaciones de la superposición de radiografías, ofreciendo una distinción mejorada de los órganos celómicos, a la par que proporciona información adicional sobre órganos como el hígado, los riñones, el tracto gastrointestinal y el estado reproductivo, siendo especialmente eficaz para evaluar los pulmones y el esqueleto (Fazio, 2021).



**Figura 33.** Estudios de TC en tortugas despiertas. A) Estudio de TC de cuerpo completo de tortuga griega (*Testudo greca*), sin restricciones especiales. B) Estudio de TC de cuerpo completo de tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*), utilizando un recipiente radiotransparente para evitar contacto de las extremidades con la camilla, al tratarse de pacientes generalmente más activos. <u>Fuente</u>: (Greco *et al.*, 2023)

La familia Cheloniidae ha sido objeto de numerosos estudios en el ámbito de la medicina veterinaria especies reptiles. Entre estas especies, la tortuga boba (*Caretta caretta*), ha desempeñado un papel destacado en esta literatura especializada. En el contexto actual de la medicina veterinaria, donde las tecnologías avanzadas están cada vez más disponibles en la práctica clínica, la TC emerge como una herramienta fundamental. Sin embargo, la aplicación creciente de esta técnica en la medicina veterinaria de tortugas se enfrenta a restricciones debido a sus costos elevados y a su limitada disponibilidad. No obstante, el riesgo reducido vinculado con su uso podría respaldar su aplicación en estas especies amenazadas (Arencibia *et al.*, 2021).

Debido a la relativamente alta frecuencia de traumatismos y enfermedades respiratorias/digestivas en estos animales, una de las aplicaciones más frecuentes de la TC se basa en el estudio del **aparato respiratorio**, proporcionando una visión detallada de las estructuras internas de los quelonios y consolidándose como el método de elección para la evaluación de éste. La lenta frecuencia respiratoria de estos animales, permite una buena visualización de los pulmones y las vías respiratorias, gracias al contraste pulmón-aire (Valente *et al.*, 2007c).

El sistema respiratorio de los quelonios se encuentra dividido en las vías respiratorias superior e inferior. La entrada de aire inspirado se realiza a través de las narinas con la boca cerrada, y pasa al tracto respiratorio inferior comprendido por la glotis, la laringe, una tráquea corta, bronquios y pulmones emparejados de varias cámaras. Ambos pulmones ocupan la cavidad celómica cráneo-dorsal. Ventralmente, los pulmones están separados de las vísceras celómicas por un septo horizontal no muscular, también conocido como "*pseudodiafragma*" (Lim *et al.*, 2013).

Aunque se ha profundizado en la fisiología respiratoria única de estos animales, existe aún una notable escasez de datos publicados sobre la anatomía normal y las patologías del sistema respiratorio. Así, en la literatura se reporta que las tortugas marinas, poseen pulmones formados por una única masa parenquimatosa, sin lóbulos, con un bronquio principal que recorre el centro desde el íleon hasta el ápice de los pulmones. La disposición de múltiples grupos de pequeñas cámaras uno al lado del otro crea un amplio compartimento aéreo subpleural con solo septos delgados entre las pequeñas cámaras, observándose con apariencia similar a la de un panal. En la figura 34, se observa el bronquio principal intrapulmonar, del cual se desprenden múltiples grupos de bronquios secundarios, que se ramifican de manera consecutiva en dirección lateral, medial y dorsal. A lo largo de toda su extensión y de los bronquios secundarios, se abren múltiples cámaras de pequeño tamaño alrededor del lumen, otorgando una apariencia corrugada a los bronquios (flechas blancas) (McArthur *et al.*, 2004; Valente *et al.*, 2007c; Ricciardi *et al.*, 2019).



**Figura 34.** Imágenes de TC en ventana pulmón, que muestran el patrón de ramificación de las vías aéreas intrapulmonares en el pulmón derecho de una tortuga boba adulta. A, MPR sagital; B, MinIP transversal; C, MPR dorsal oblicua. ib: bronquio intrapulmonar, pa: arteria pulmonar, pv: vena pulmonar. <u>Fuente</u>: (Ricciardi *et al.*, 2019)

Otros estudios realizados en <u>tortugas semi-acuáticas</u>, como la tortuga del Caspio (*Mauremys caspica*) (Davari *et al.*, 2020), el galápago europeo (*Emys orbicularis*) (Zehtabvar *et al.*, 2014); y <u>terrestres</u>, como la tortuga egipcia (*Testudo kleinmanni*) (Saber y Kamal, 2010), han proporcionado información sobre la anatomía normal del sistema respiratorio mediante TC. Se ha documentado que la tráquea presenta variaciones en su ruta y posición según la especie de estudio. En *Mauremys caspica*, por ejemplo, la tráquea se localiza ventral a la faringe, y en su ingreso en la cavidad celómica se posiciona en el lado izquierdo del cuello, donde se bifurca a nivel de la primera costilla. Por el contrario, en *Caretta caretta y Testudo kleinmanni*, la tráquea se encuentra ventral y lateralizada hacia la derecha del esófago, y en ésta última la tráquea se bifurca entre la segunda y la cuarta vértebra cervical. Por otro lado, en las tortugas marinas, la bifurcación traqueal se encuentra más caudal, alcanzando en *Caretta caretta aproximadamente el nivel de las primeras vértebras torácicas (Zehtabvar et al.*, 2014; Davari *et al.*, 2020).

El mayor desafío al tratar quelonios con enfermedades respiratorias radica en la tardía detección de la enfermedad por parte del cuidador, y suele conllevar la necesidad de pruebas diagnósticas adicionales para comprender la extensión de la afección

respiratoria. La TC proporciona una representación precisa de la anatomía interna sin superposición de estructuras adyacentes. La baja frecuencia respiratoria limita los artefactos de movimiento, permitiendo así una definición más precisa del patrón pulmonar y de las anomalías patológicas. Los hallazgos de TC de una "atenuación en forma de vidrio esmerilado", "panal de abeja" y septos pulmonares engrosados en este caso son similares a los descritos en la fibrosis pulmonar idiopática canina, y los hallazgos histopatológicos también fueron similares. La "atenuación en forma de vidrio esmerilado" se correspondía a los septos alveolares prominentes y engrosados debido a la marcada hiperplasia epitelial, inflamación y fibrosis (Lim *et al.*, 2013). En TC, los pulmones parecían enfisematosos con septos pulmonares irregularmente engrosados, opacidad vítrea difusa y hacia la periferia de los pulmones varias áreas más pequeñas de panalización pulmonar (Figura 35). Estos cambios diferían notablemente del patrón reticular descrito en tortugas normales y eran compatibles con fibrosis pulmonar intersticial crónica y extensa (Gumpenberger, 2021).



**Figura 35.** Comparación de imágenes transversales de TC de la tortuga leopardo afectada (A y B), con tortuga normal (C y D), en ventana pulmón. <u>Fuente</u>: (Lim *et al.*, 2013)

La falta adecuada de cuidado y alimentación a menudo predispone a los animales a enfermedades infecciosas. Herpesvirus, Iridovirus y *Mycoplasma* spp., son agentes infecciosos bien documentados que causan enfermedades del tracto respiratorio superior en tortugas. Estas infecciones suelen manifestarse con síntomas como rinitis, conjuntivitis y estomatitis, aunque en algunos casos, la sintomatología puede no estar presente. En situaciones donde solo se observa distrés respiratorio severo, incluso con respiración bucal abierta, se puede sospechar una obstrucción o compresión de la tráquea o los bronquios. Se ha descrito que la TC es una herramienta útil para valorar la compresión traqueal o bronquial por anomalías vasculares, estructurales, trastornos esqueléticos o masas (Figura 36) (Meyer *et al.*, 2013).



**Figura 36.** Imagen de TC en plano transversal, ventana tejido blando de la región cervical de tortuga, caudal a la bifurcación de la tráquea. Se distingue el bronquio derecho como una estructura hipoatenuante (-980 UH), en forma de ocho (flecha negra), a nivel de la bifurcación; mientras que el bronquio izquierdo presenta un colapso prácticamente completo, siendo apenas discernible (flechas blancas). <u>Fuente</u>: (Meyer *et al.*, 2013)

El pulmón en quelonios se adhiere dorsalmente al caparazón, y es propenso al sangrado en situaciones de traumatismos, como lesiones causadas por hélices de barcos en tortugas marinas, o accidentes automovilísticos o por cortadoras de césped en tortugas terrestres. Esto resulta en un aumento visible de la atenuación en el pulmón adyacente a la línea de fractura del caparazón. En ocasiones, solo se observa un engrosamiento pleural o hemorragia extrapleural en TC (Gumpenberger, 2021). Por otro lado, y debido principalmente a su elevada exposición a impactos antropogénicos, la mayoría de las especies de tortugas marinas están clasificadas como vulnerables en la Lista Roja de la UICN (Arencibia et al., 2006). Las colisiones con embarcaciones y las actividades pesqueras son frecuentes, y pueden resultar en lesiones traumáticas, con daños en los pulmones o encéfalo debido a la penetración de fragmentos óseos fracturados. La contusión en el cráneo puede provocar edema cerebral o hemorragia intracraneal, con o sin fracturas evidentes, y laceraciones profundas en los tejidos blandos. Aunque estas lesiones no afecten de inmediato las funciones vitales, pueden dar lugar a daños permanentes en la visión, función vestibular y otros sentidos. En caso de supervivencia, es frecuente observar debilidad, desorientación y déficits irreversibles, lo que complica la capacidad del individuo para alimentarse o escapar de los depredadores. Por este motivo, es común que en el examen clínico de tortugas con traumatismo craneoencefálico presenten desnutrición y anorexia como parte de su estado físico. El diagnóstico y el tratamiento temprano mejoran las tasas de morbilidad y mortalidad, pero lamentablemente, la mayoría de ellas no se evalúan inmediatamente después del trauma. La identificación temprana y la evaluación de las lesiones en la cabeza mediante un examen clínico, y en casos más severos, el estudio tomográfico, son herramientas cruciales para caracterizar mejor la lesión, evaluar posibles afectaciones en el tejido cerebral y la extensión completa del daño (Franchini *et al.*, 2016, 2023).

Las imágenes tomográficas pueden procesarse para obtener reconstrucciones tridimensionales e imágenes multiplanares, que facilitan la identificación de fracturas en los huesos que conforman el cráneo y clasificarlas según su naturaleza (lítica, proliferativa, entre otras). Se ha documentado que fragmentos óseos pueden proyectarse hacia la duramadre en casos de heridas abiertas, asociándose con la detección de neumoencéfalo, laceraciones e inflamación cerebrales. Además, en ciertos casos, se han observado laceraciones en los músculos aductores de la mandíbula, específicamente en los músculos pseudotemporales y pterigoideos dorsal y ventral. Las estructuras óseas afectadas con mayor frecuencia por el traumatismo suelen ser los huesos parietales, frontales, postorbitales, nasales, maxilares, premaxilares y yugales.

En situaciones más críticas, se podría dar lugar a la exposición cerebral y daño en las glándulas salinas, involucrando las regiones postorbitales o afectando los órganos sensoriales (Figura 37). Dado que las tortugas marinas no poseen aberturas externas en los oídos y su oído medio está ubicado en la región temporal, protegido por un tímpano compuesto de escamas que recubren tejido conectivo fibroso, cualquier lesión en la región lateral del cráneo podría tener un impacto significativo en la audición y la percepción vestibular de estos animales (Franchini *et al.*, 2016, 2023).



**Figura 37.** (a) Imagen transversal de TC en algoritmo y ventana hueso (descrito en la publicación como ventana encéfalo), que muestra la presencia de una lesión traumática cerebral y fracturas conminutas de los huesos parietal, prefrontal y frontal. Se observa neumoencéfalo y laceraciones del tejido cerebral. (b) Vista oblicua rostro-dorso-caudal en VR3D. <u>Fuente:</u> (Franchini *et al.*, 2016)

Dentro de estos impactos antropogénicos, el <u>síndrome descompresivo</u> se observa claramente en el examen tomográfico. Es posible detectar la presencia de embolismo gaseoso en el corazón, los vasos sanguíneos principales, el sistema venoso hepático e incluso el sistema nervioso. La TC se presenta entre los métodos más efectivos para visualizar el enfisema, en comparación con la radiografía. Durante la descompresión después del buceo profundo, el nitrógeno absorbido pasa de la fase disuelta a la fase libre y pueden formarse burbujas de gas en los tejidos. Estas burbujas pueden comprometer la vascularización y el riego sanguíneo del hueso si están presentes en la circulación arterial. El hueso subcondral en la cabeza del húmero y el fémur se ve afectado, lo que lleva a la muerte del tejido y al hundimiento de la superficie articular.

En las vértebras, la necrosis se manifiesta como una línea translúcida en el centro del cuerpo vertebral (Moore y Early, 2004; Lafforgue, 2006; Carlsen, 2017).

Los vertebrados que realizan inmersiones con retención de la respiración, incluidos mamíferos y tortugas marinas, clásicamente se consideraban protegidos contra la descompresión mediante adaptaciones anatómicas, fisiológicas y de comportamiento. Las tortugas marinas, exhiben una respuesta al buceo con bradicardia pronunciada, reduciendo así su metabolismo y la demanda de oxígeno. Estas adaptaciones, presentes también en ballenas y focas, se centran en la capacidad de colapsar y volver a llenar los alvéolos pulmonares, cerrando la superficie de intercambio gaseoso y minimizando la absorción de nitrógeno (Carlsen, 2017).

Las tortugas marinas están entre los vertebrados marinos que realizan inmersiones más largas y profundas. Las tortugas marinas mantienen una presión interna en los alveólos al principio y al final del buceo, que sería igual o incluso menor al final de éste, debido al consumo de oxígeno. Pueden pasar más del 90% de su vida sumergidas en apnea y utilizan eficientemente el oxígeno mediante ajustes cardiovasculares, similares a otros vertebrados (García-Párraga *et al.*, 2014).

No obstante, se informó sobre la existencia de un síndrome agudo y sistémico de embolia gaseosa y grasa, similar al síndrome descompresivo observado en buceadores humanos, en zifios que quedaron varados en cercanía temporal y espacial a ejercicios militares que implicaban el uso de sonar de alta potencia (Fernández *et al.*, 2005). Desde la primera comunicación sobre este tema, se ha reunido un conjunto creciente de pruebas que corrobora la existencia de burbujas de gas en vertebrados marinos durante sus inmersiones, abarcando situaciones que involucran tanto osteonecrosis disbárica como embolia gaseosa en animales capturados de manera incidental (Moore y Early, 2004; Jepson *et al.*, 2005; Moore *et al.*, 2009; De Quirós *et al.*, 2011; Dennison *et al.*, 2012).

En los estudios de TC realizados se observó embolismo renal, hepático, cardíaco, esplénico y encefálico. El gas se observó dentro de diferentes vasos regionales como focos hipoatenuantes en comparación con los tejidos circundantes. Al igual que en las

radiografías, los pulmones de los casos más graves se observaban hiperatenuantes y su expansión estaba reducida debido al colapso parcial. Las imágenes de TC en MPR sagital revelaron la presencia de gas en el canal vertebral y el encéfalo, una condición que no fue identificada mediante ecografía ni radiografía (García-Párraga *et al.*, 2014).

Los parámetros de adquisición utilizados en la publicación fueron un grosor de corte de 5mm y un intervalo de corte de 5mm, utilizando una adquisición de 0.5mm bajo algoritmos específicos para pulmones y tejido blando. Las imágenes fueron posteriormente procesadas con el visor Dicom Osirix y el software de TC Philips Brilliance Workspace (Koninklijke Philips), con el que se generó un modelo tridimensional de aire mediante una reconstrucción segmentada volumétrica (VR3D) (Figura 38).



**Figura 38.** Evidencia de embolismo gaseoso en *Caretta caretta* mediante TC. (a) Imagen transversal a nivel cardiaco en caso de embolismo gaseoso sistémico grave, mostrando evidencia de gas intraluminal dentro del corazón y vasos principales. También se visualiza gas en el sistema venoso hepático (H), y el canal vertebral (VC). Los pulmones (L), están hiperatenuados debido

a un colapso parcial. HV: venas hepáticas; SV: seno venoso; RA: aurícula derecha. (b) Vista oblícua caudo-dorsal en VR3D. Se observa presencia intraluminal en los diferentes vasos periféricos e intracelómicos. K: riñones; A: aorta; MC: vena marginocostal. (c) Imagen sagital en ventana pulmón de caso de embolismo gaseoso sistémico leve. Se observa la presencia de gas en sistema nervioso central (SC), y vasos renales y hepáticos. (d, e) Reconstrucciones en vista dorsal con renderización de volumen de aire en 3D en un caso de embolismo gaseoso sistémico moderado, antes (d), y después (e) del tratamiento hiperbárico con oxígeno para la recompresión. Las imágenes se obtuvieron con 6 horas de diferencia. El gas se muestra en un color más brillante. Gas intravascular marcado con asteriscos (\*). En la imagen d, se observa la delimitación de las venas hepáticas y los vasos renales por la presencia de gas intraluminal y la reducción del parénquima pulmonar. En la imagen e, gran parte gas contenido en grandes vasos ha desaparecido posttratamiento, indicando reabsorción/eliminación de gas, al igual que se observa una mejora en la expansión pulmonar. Fuente: (García-Párraga et al., 2014)

Debido a las múltiples estructuras óseas y relieves del cráneo, la TC es una de las técnicas de elección para la evaluación de esta región. Hay autores que han utilizado la TC para la elaboración de atlas que facilitan el estudio y orientación anatómica de la cabeza de la tortuga boba (Arencibia *et al.*, 2021). En este atlas, la cabeza de la tortuga puede ser estudiada de manera interactiva utilizando la TC en ventana hueso (Figuras 39 y 40), y tejido blando (Figuras 41 y 42), así como planos de anatomía macroscópica (Figuras 44-47), incluyendo imágenes osteológicas (Figura 43).

Para este atlas, los autores utilizaron una ventana amplia para el hueso y una ventana estrecha para los tejidos blandos para obtener las imágenes transversales y sagitales de TC. Los detalles anatómicos de la cabeza se evalúan según la ubicación y las características de atenuación de los diferentes tejidos en las correspondientes ventanas (Figuras 39-42).



Figura 39. Imagen transversal TC en ventana hueso. Fuente: (Arencibia et al., 2021)



Figura 40. Imagen sagital TC en ventana hueso. Fuente: (Arencibia et al., 2021)



Figura 41. Imagen transversal TC en ventana tejido blando. Fuente: (Arencibia et al., 2021)



Figura 42. Imagen sagital TC en ventana tejido blando. Fuente: (Arencibia et al., 2021)

En las imágenes osteológicas (Figura 43) se identificaron los huesos del cráneo (prefrontal, frontal, parietal, postorbital, supraoccipital, cuadratoyugal, yugal y maxilar), y la mandíbula (dentario, angular, surangular, prearticular, esplenial y articular).



Figura 43. Imagen osteológica lateral. Fuente: (Arencibia et al., 2021)

La sección de disecciones aporta una visión detallada de los huesos y músculos de la cabeza, así como diversas partes de los sistemas respiratorio (cavidad nasal, glotis y tráquea), digestivo (cavidad oral, lengua y esófago) y órganos de los sentidos (globo ocular y oído). Se identifica la presencia de las glándulas salinas excretoras, proporcionando una comprensión integral de las estructuras anatómicas. Asimismo, en estas imágenes se identifican componentes del cerebro, como el telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo, metencéfalo y mielencéfalo. Además, se observaron otras estructuras notables, como la ranfoteca y las escamas de la cabeza, enriqueciendo la experiencia de aprendizaje anatómico (Figuras 44-47).



Figura 44. Imagen disección del sistema nervioso central, aspecto dorsal. <u>Fuente</u>: (Arencibia *et al.*, 2021)



Figura 46. Imagen macroscópica ventral. Fuente: (Arencibia et al., 2021)



Figura 47. Imagen macroscópica región del globo ocular derecho. Fuente: (Arencibia et al., 2021)

Con esta contribución, los autores enriquecen considerablemente la comprensión anatómica de esta región, presentando un recurso altamente valioso con aplicaciones tanto en el ámbito médico como educativo. Además, la herramienta ofrece ventajas al permitir superposiciones de bloques de color que definen claramente los márgenes de las estructuras y asignan etiquetas digitales a las imágenes, evitando así la necesidad de recurrir a flechas y leyendas complicadas.

En lo que respecta a las **estructuras esqueléticas**, la reconstrucción en MPR sagital de la columna vertebral permite la evaluación de los cuerpos vertebrales y el canal vertebral, siendo este más ancho en la región cervical, que en otras porciones de la columna vertebral (Figura 48). El espacio intervertebral disminuye en progresión cráneo-caudal. La tortuga boba cuenta con 8 vértebras cervicales móviles, 9 dorsales y 9 sacras, variando según la especie de estudio (Valente *et al.*, 2007c).



**Figura 48.** Reconstrucción MIP sagital en ventana pulmón de tortuga boba. Imagen cedida por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de Tafira, Cabildo de Gran Canaria (Pascual Calabuig).

El caparazón está compuesto por aproximadamente 50 huesos, además de una fusión robusta entre las costillas y las vértebras (Valente *et al.*, 2007c). La atenuación típica del caparazón de los quelonios oscila entre 950 y 1000 UH, salvo en aquellos individuos afectados por enfermedad ósea metabólica, donde el rango puede disminuir significativamente, situándose alrededor de 350-550 UH (Knotek *et al.*, 2018). Las lesiones traumáticas en el caparazón son frecuentes en los quelonios. La variedad de estas lesiones abarca desde abrasiones superficiales con pérdida de la capa externa de la piel y exposición ósea, hasta fracturas complejas del caparazón con exposición de los órganos internos y daños en los tejidos blandos (Figuras 49 y 50) (Abou-Madi *et al.*, 2004; Spadola *et al.*, 2016).



Figura 49. Imágenes transversales de TC en ventana hueso de una tortuga boba. Se aprecian lesiones en el caparazón afectando a estructuras celómicas. Fuente: (Spadola *et al.*, 2016)



**Figura 50.** Vista rostro-caudal en reconstrucción tridimensional. TC de tortuga con fractura en el aspecto medio del eje de la escápula izquierda con desplazamiento ventro-lateral moderado (flecha corta), y una fractura en el caparazón izquierdo (flecha larga). <u>Fuente</u>: (Abou-Madi *et al.*, 2004)

# Tomografía Computarizada en Lagartos

En términos generales, la TC se establece como la prueba "gold standard" para la visualización del tracto respiratorio en reptiles. Al igual que ocurría en los quelonios, los posibles artefactos de movimiento derivados de la respiración no suelen ser comunes debido a la baja frecuencia respiratoria de estas especies. Al realizar estudios de TC del aparato respiratorio en lagartos, es esencial observar una adecuada aireación de la cavidad nasal. La presencia de atenuación líquido/tejido blando en una o ambas cavidades nasales puede indicar rinitis o epistaxis, generalmente asociada a traumatismos o hemorragias pulmonares. Por otro lado, la glotis, la tráquea y los bronquios se presentan como estructuras tubulares con contenido gas, delineadas por una fina pared de atenuación tejido blando/mineral. Las indicaciones comunes para

cuerpos extraños o masas (neoplasias, granulomas, abscesos). Dentro de los hallazgos patológicos se incluye el contenido de atenuaciones líquido/tejido blando intraluminal, con márgenes mal definidos e irregulares en la tráquea sugiriendo acumulaciones de secreciones, cuerpos extraños o masas. Asimismo, la obstrucción y el engrosamiento de la pared bronquial también son detectables mediante TC (Junghanns *et al.,* 2011; Gumpenberger, 2021).

El pulmón se visualiza como una estructura con atenuación gas, de forma alargada u ovalada, cuya expansión varía según el momento de la respiración dado que se ve condicionada por la presencia de órganos adyacentes, especialmente del tracto digestivo. La TC permite la visualización tanto del tracto respiratorio superior, como de la delicada arquitectura de los pulmones en las diferentes especies, especialmente en ventanas pulmonares u óseas. En la mayoría de las especies de lagartos, el interior del pulmón está compuesto por numerosos tabiques delgados. Los anillos traqueales, la bifurcación de los bronquios y otros detalles anatómicos son claramente visibles con esta técnica. En estos animales, el vaso pulmonar central y las vías respiratorias periféricas se visualizan comúnmente en condiciones normales con TC. La neumonía por aspiración, bronconeumonía, neumonía granulomatosa crónica y neumonía parasitaria suelen ser los trastornos respiratorios más comunes. Las lesiones a menudo se presentan como lesiones focales (Meban, 1978; Gumpenberger, 2021).

Aunque no hay grasa entre los órganos celómicos, las atenuaciones de tejidos blandos ligeramente diferentes se pueden identificar en la TC. Por lo tanto, se pueden visualizar la tiroides, el corazón, el hígado, la vesícula biliar, el bazo, el riñón, la vejiga urinaria o las gónadas y el tracto gastrointestinal. Existen publicaciones que aportan imágenes tomográficas normales del tracto respiratorio de las especies de lagartos más comunes Sin embargo, la literatura disponible aún no ha sido capaz de documentar todas las especies de reptiles diferentes (Gumpenberger, 2021).

Existen publicaciones que comparan la cavidad celómica de diferentes especies de reptiles lagartos. En ellos se reporta que la cavidad celómica del tegu blanco y negro (*Tupinambis merianae*), se divide casi por completo mediante el "septo posthepático" en una cavidad craneal que alberga los pulmones y el hígado, y una cavidad caudal que

contiene el resto de vísceras. Este septo está compuesto por capas de fibras colágenas y músculo liso, el cual no fue observado en imágenes por TC. En contraposición, la cavidad celómica de la iguana verde (*Iguana iguana*) y el dragón barbudo (*Pogona vitticeps*) presentan una cavidad pleuroperitoneal no dividida. Los autores destacan la importancia de que los profesionales clínicos tengan conocimiento de esta estructura al analizar la anatomía topográfica de los órganos dentro de la cavidad celómica, dado que la extirpación de la misma con fines experimentales ocasionó un desplazamiento visceral severo (Klein *et al.*, 2003; Banzato *et al.*, 2013b).

El camaleón velado (*Chamaeleo calyptratus*) y el camaleón pantera (*Furcifer pardalis*) son populares como mascotas, y algunos autores han realizado la descripción de la anatomía normal por TC de los órganos celómicos en individuos sanos para proporcionar valores de referencia en estas especies. Para ello, se empleó un equipo de TC helicoidal de 16 cortes con un grosor de corte de 0.625mm, obteniendo series pre y postcontraste a los 30 segundos y 1 minuto después de la administración del contraste yodado no iónico a una dosis de 600 mg/kg en la vena caudal. Las imágenes mostraron estructuras como el corazón, pulmones, hígado, vesícula biliar, esófago, estómago, intestinos, gónadas, cuerpos grasos, riñones y vejiga urinaria. No obstante, el bazo, el páncreas y las glándulas adrenales no fueron identificables. (Melero *et al.*, 2023).




**Figura 51.** Imágenes de TC sin (1), y con contraste (2), con secciones macroscópicas (3), en algoritmo hueso/pulmón y tejido blando, con medidas de longitud y altura (1), del corazón, hígado, vesícula biliar, testículos, riñones y cuerpos grasos en un camaleón velado (*C. calyptratus*). Las imágenes transversales de TC sin contraste, mostradas en ventanas de tejido blando (1B-1E), muestran las medidas de ancho y altura de los mismos órganos. H: corazón; RLi: lóbulo hepático derecho; LLi: lóbulo hepático izquierdo; GB: vesícula biliar; RK: riñón derecho; LK: riñón izquierdo; RT, testículo derecho; LT: testículo izquierdo; RFB: cuerpo graso derecho; RLu: pulmón derecho; LLu: pulmón izquierdo; Es: esófago; ST: estómago; LFB: cuerpo graso izquierdo; Co: colon. <u>Fuente</u>: (Melero *et al.*, 2023)

La TC también se utiliza con frecuencia para el diagnóstico **enfermedades esqueléticas**. Debido a su alta resolución espacial permite la detección de fracturas sutiles que pueden no ser visibles con otras modalidades de imágenes. Asimismo, es útil en la planificación y seguimiento de cirugías, donde las reconstrucciones 3D pueden ser muy útiles para ello, especialmente en fracturas complicadas (Vilaplana Grosso, 2019).

La forma más prevalente de enfermedad ósea metabólica en reptiles en cautividad es el hiperparatiroidismo nutricional secundario. La mayoría de los lagartos no pueden adquirir suficiente vitamina D únicamente a través de su dieta. Estas especies dependen de la exposición a la luz solar y de mantener una temperatura adecuada para la producción endógena de vitamina D y el mantenimiento de niveles apropiados. Es común que los animales en cautiverio no reciban una exposición suficiente a la luz ultravioleta de tipo B (UVB) lo que resulta en bajos niveles de vitamina D. La TC permite el diagnóstico de la enfermedad metabólica ósea cuyos hallazgos patológicos son la falta asociada de mineralización, fracturas y curvatura de los huesos. La evaluación de la

densidad ósea debe realizarse en los huesos largos, cuya corteza debería rondar las 1000 UH (Junghanns *et al.*, 2011; Fielder y Brandão, 2022).

Las fracturas vertebrales son comunes en reptiles lagartos, a menudo como resultado de afecciones patológicas como la osteodistrofia fibrosa o la osteomielitis. Sin embargo, también se pueden producir fracturas y subluxaciones traumáticas, especialmente en situaciones de ataque por otros animales (Vilaplana Grosso, 2019). La TC permite visualizar luxaciones de los cuerpos vertebrales y el estrechamiento del canal medular (Zimmerman *et al.*, 2009). En casos de fracturas complejas, las reconstrucciones tridimensionales pueden utilizarse para determinar el grado de daño y la dislocación de los fragmentos óseos. Además, se pueden observar luxaciones y cambios óseos en la región de las articulaciones, aunque son poco comunes en reptiles y afectan principalmente a la articulación coxofemoral en lagartos. Asimismo, la TC también está indicada para evaluar procesos neoplásicos que afectan el sistema musculoesquelético (Junghanns *et al.*, 2011).

En investigaciones anteriores, se ha empleado tanto la disección anatómica como la TC para explorar el número y la morfología general de las costillas y vértebras en especies de lagartos varanos (Figura 52). Se observó una notable variabilidad en el número de vértebras entre las especies, con rangos que oscilan entre 27 y 35 vértebras presacras y entre 47 y 137 vértebras postsacras. A pesar de la variabilidad en el número de costillas flotantes, la mayoría de las especies examinadas presentaron tres o cuatro costillas cervicales y tres costillas verdaderas. Los autores proporcionaron detalles sobre los puntos de inserción de la musculatura epaxial e hipaxial, resaltando la presencia única en los varánidos de *supracostalis dorsus brevis* (epaxial) y *levator costae* (hipaxial), los cuales conectan cada costilla de manera independiente a la columna vertebral. Aunque se necesitan descripciones musculares más detalladas, se realizaron comparaciones con la condición observada en la iguana verde (*Iguana iguana*) (Cieri, 2018).

90



**Figura 52.** Morfología de las costillas en *Varanus exanthematicus*. Las costillas cervicales (vértebra 9), tienen una porción vertebral ósea y a veces un cartílago costal corto. Las costillas verdaderas (vértebra 10), tienen una porción vertebral ósea y una porción esternal de cartílago calcificado que llega al esternón. Las costillas flotantes (vértebra 16), tienen una porción vertebral ósea y un cartílago costal. Las costillas flotantes 'abdominales' caudales (vértebra 22), son mucho más cortas que las costillas flotantes precedentes y generalmente no tienen ningún cartílago costal asociado. <u>Fuente</u>: (Cieri, 2018)

Los lagartos tienen un cráneo más desarrollado cinéticamente, lo que les permite elevar su maxilar y descender su mandíbula simultáneamente, resultando en una amplia abertura. Además, poseen un hueso cuadrado sin una conexión firme, que puede moverse fácilmente hacia adelante y hacia atrás, lo que aumenta aún más la abertura potencial de la mandíbula. Se han reportado fracturas craneales tanto en lagartos salvajes como en cautiverio, cuyas lesiones pueden interferir con la función oral. Para evaluar completamente la fractura se requieren imágenes de TC, que además proporcionan información particularmente útil en casos en los que se va a realizar una estabilización quirúrgica (Hedley, 2016).

Las fracturas craneales generalmente ocurren como consecuencia de traumas severos. En general, la TC se puede realizar para evaluar completamente la gravedad de la lesión. Las fracturas mandibulares y maxilares pueden ocurrir en asociación con enfermedades dentales o secundarias a enfermedad ósea metabólica (Vilaplana Grosso, 2019). El cráneo se compone de varios huesos que se conectan en suturas, que son puntos cruciales para el crecimiento. A medida que el crecimiento se ralentiza hasta el cese, algunas suturas se fusionan, mientras que otras permanecen abiertas. A menudo, la fusión prematura de las suturas conduce a síndromes deformantes. Se ha observado que las suturas abiertas generan una distribución más amplia y una reducción de los gradientes de tensión generales. Por lo tanto, las suturas no solo son sitios de crecimiento óseo, sino que también podrían ser esenciales para la regulación de tensiones necesarias para el crecimiento y desarrollo normal en reptiles (Curtis *et al.*, 2013).

Además, existen investigaciones que se enfocan en la descripción detallada de la forma y estructura general de cada elemento craneal utilizando la TC (Paluh y Bauer, 2017; Paparella y Caldwell, 2022). Entre ellos, se ha descrito el de la especie *Elgaria panamintina* mediante un equipo de TC de alta resolución (Figura 53). Este estudio no solo proporciona una descripción detallada del cráneo de *Elgaria panamintina*, sino también una referencia para la osteología craneal del género Elgaria (Ledesma y Scarpetta, 2018).



10 mm

**Figura 53.** VR3D en vista lateral del cráneo en *Elgaria panamintina* con equipo de TC de alta resolución. Escala 10mm. Co: hueso coronoides; D: hueso dentario; Fr: hueso frontal; H: aparato hioideo; Mx: hueso maxilar; Os: orbitoesfenoides; Pal: palpebral; Pro: hueso proótico; Px: hueso premaxilar; Q: hueso cuadrado; San: hueso surangular; Sq: hueso escamoso; scl: osificaciones escleróticas. <u>Fuente</u>: (Ledesma y Scarpetta, 2018)

# Microtomografía Computarizada

Con el fin de mejorar las técnicas de investigación para el estudio morfológico de muestras biológicas, la microtomografía computarizada ( $\mu$ TC), es una forma especializada de escaneo de TC destinada a la obtención de estudios con resoluciones en el rango de micrómetros ( $\mu$ m). Originalmente, este tipo de TC fue diseñado para animales de laboratorio, como pequeños roedores, pero debido su alta resolución, se utiliza en especies exóticas de pequeño tamaño (Figura 54). Los principios de exploración y operación de la  $\mu$ TC son similares a los de la TC estándar (Vilaplana Grosso, 2019).



Figura 54. Equipo de µTC. Fuente: AZoM.com - An AZoNetwork Site.

Estos avances tecnológicos han revolucionado la investigación adquiriendo imágenes tanto de animales de pequeño tamaño como de diversas muestras biológicas, que pueden ir desde tejidos blandos, estructuras mineralizadas y pequeñas neoplasias, utilizándose a veces en plantas e insectos. Por otro lado, estas técnicas se han aplicado de manera exitosa en campos de investigación especializados como la arqueología y la paleontología (Lauridsen *et al.*, 2011; Cerda *et al.*, 2016; Broeckhoven y Du Plessis, 2018). La µTC difiere de la TC en tres aspectos importantes (Tabla 4):

тс	μΤϹ	
Fuente de rayos X y detector se mueven	Fuente de rayos X y detector fijos y	
alrededor de la muestra estática	muestra en rotación	
Modificación de voltaje y corriente más	Modificación de voltaje y corriente más	
limitada	flexible, mejor adaptación a variedad de	
	materiales	
Resolución de imagen 70 µm	Resolución de imagen: 5-150 µm	

**Tabla 4.** Comparación entre TC y μTC.

Algunas ventajas de la  $\mu$ TC sobre la TC son su menor tamaño y el innecesario blindaje con plomo de la sala de TC, ya que la carcasa del equipo incluye blindaje propio. La principal desventaja de la  $\mu$ TC es el rango limitado de especies que pueden caber en el dispositivo, debido a su tamaño más reducido (Vilaplana Grosso, 2019).

Además de su gran capacidad de visualización, la µTC de rayos X ofrece la ventaja de proporcionar medidas *in situ* altamente precisas. Estas medidas abarcan estructuras con bordes bien definidos, como el hueso, en un espacio tridimensional con alta precisión. La técnica también permite la extracción de información volumétrica de estructuras clave, como el cerebro, el sistema vestibular y los canales vasculares (Broeckhoven y Du Plessis, 2018).

Dentro de los inconvenientes, se pueden reconocer diversos artefactos en las imágenes obtenidas. Uno de los más críticos está vinculado a imágenes de objetos extremadamente densos, como hueso, metal y medios de contraste altamente concentrados. En imágenes afectadas por este artefacto, pueden aparecer líneas con valores de señal incorrectos (Figura 55-d), si bien existen técnicas disponibles para corregir dichos errores (Holdsworth y Thornton, 2002; Broeckhoven y Du Plessis, 2018).



**Figura 55.** Cortes dorsales con μTC de un camaleón de Jackson (*Trioceros jacksonii*), en algoritmo hueso pulmón y tejido blando, donde se muestran artefactos comunes: (**a**), la presencia de una etiqueta metálica en el área de escaneo genera artefactos alineados en la esquina inferior derecha; (**b**), se usó un voltaje insuficiente, creando artefactos alrededor de las partes densas de la muestra; (**c**), el voltaje configurado fue demasiado alto, resultando en un contraste deficiente; (**d**), mala calidad debido a una fijación de la reconstrucción configurada demasiado alta; (**e**), bordes dobles debido a cálculos incorrectos durante la compensación en la reconstrucción; (**f**), ligero desenfoque causado por un montaje incorrecto. <u>Fuente</u>: (Broeckhoven y Du Plessis, 2018)

La µTC se está convirtiendo en uno de los métodos líderes para visualizar, describir y cuantificar estructuras morfológicas con gran detalle y precisión. Más específicamente en estudios herpetológicos, esta técnica se utiliza con frecuencia para describir la morfología esquelética, especialmente de la anatomía craneal. Asimismo, se utiliza de manera recurrente para investigar elementos esqueléticos y extraesqueléticos que no tienen indicadores externos confiables que puedan medirse de manera directa o fácilmente observables desde el exterior. Algunas publicaciones han llevado a cabo el estudio de la anatomía vascular cefálica y la morfología ventricular en iguanas verdes (Figura 56) (Porter y Witmer, 2015; Kier *et al.*, 2023); la anatomía craneal de la iguana marina de Galápagos (*Amblyrhynchus cristatus*) (Paparella y Caldwell, 2022); la estructura de los osteodermos y las suturas en la tortuga laúd (*Dermochelys choriacea*) (Chen *et al.*, 2015); la anatomía y variaciones entre el árbol bronquial del caimán estadounidense (*Alligator mississippiensis*), y el avestruz (*Struthio camelus*) (Schachner *et al.*, 2021); así como la morfometría ósea del húmero de cadáveres de koalas adultos

(Hawkins *et al.*, 2022). Además, se han llevado a cabo estudios que exploran la anatomía de órganos, huesos y vasos sanguíneos en diversas especies, incluyendo peces, anfibios, reptiles, mamíferos y arañas (Lauridsen *et al.*, 2011).



**Figura 56.** Vista lateral en VR3D por µTC de la vascularización arterial cerebral de la iguana verde. Ba, arteria basilar; CaIC, carótida interna caudal; IC, carótida interna; ITe, arteria tectal inferior; LO, olfatoria lateral; MO, olfatoria medial; PC, arteria cerebral posterior; RoIC, carótida interna rostral. <u>Fuente</u>: (Kier *et al.*, 2023)

## **Resonancia Magnética**

En 1946, Felix Bloch y Edward Purcell, de las Universidades de Stanford y Harvard respectivamente, descubrieron un fenómeno magnético en ciertos núcleos que absorben y emiten energía en el espectro electromagnético cuando se exponen a un campo magnético. Este descubrimiento les valió el Premio Nobel de Física en 1952. En 1973, el doctor Lauterbur vió el potencial de usar este fenómeno para crear imágenes médicas bidimensionales, lo que le llevó a obtener el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 2003 (Geva, 2006). En la década de 1960, Richard Ernst y Weston Anderson revolucionaron la resonancia magnética nuclear (RMN), al usar pulsos cortos de alta intensidad en lugar de barridos lentos de frecuencias. Esto mejoró significativamente la técnica, pero también planteó desafíos matemáticos. En 1970, Ernst aplicó trenes de pulsos de radiofrecuencia (RF) para obtener espectros en dos dimensiones, lo que permitió analizar la estructura tridimensional de moléculas complejas y sentó las bases para la imagen por resonancia magnética (MRI) en medicina. Richard Ernst recibió el Premio Nobel de Química en 1991 por sus contribuciones (Waksman Minsky y Saucedo Yáñez, 2019). En 1971, Raymond V. Damadian propuso usar mediciones de resonancia de eco de espín para diferenciar entre tumores malignos y tejido normal. En 1974, confirmó sus resultados usando tejido humano y contribuyó al desarrollo de los primeros equipos de RM (Canals L, 2008).

El uso de la RM, en el campo de la medicina veterinaria se ha convertido en una importante herramienta de diagnóstico debido a su alta resolución de contraste con la que se pueden caracterizar los tejidos blandos de una forma más sensible que con la TC (Wilkinson *et al.*, 2004).

97

## Principios físicos

Esta técnica se basa en el fenómeno físico de absorción de energía en forma de RF por parte de los átomos con núcleos con número impar de nucleones. Por lo general, en la imagen de tejido blando, los núcleos de hidrógeno se alinearán paralelos al campo magnético externo aplicado uniformemente, produciendo un momento magnético neto. Cuando se aplica un pulso de RF de microsegundos, perpendicular al campo magnético externo, inclina los núcleos de hidrógeno orientados lejos de la dirección del campo magnético externo. La retirada subsiguiente del pulso de RF vuelve a orientar los núcleos de hidrógeno paralelos al campo magnético externo, lo que se denomina relajación. La relajación conduce a la pérdida de energía al emitir una señal de RF desde los núcleos, que induce un voltaje que puede detectarse aplicando una bobina conductora alrededor del objeto cuya imagen se va a obtener. La señal se genera principalmente por el hidrógeno, dado que son los átomos más abundantes en las moléculas de agua y lípidos presentes en las muestras biológicas. Otros átomos como carbono, fósforo, sodio y flúor también generan señales detectables pero débiles en la RM (Prasad et al., 2021). Los elementos susceptibles de generar señales detectables por RM son todos aquellos elementos cuyos núcleos tienen momentos magnéticos y angulares intrínsecos distintos de cero (Figura 57), también denominado "átomos con espín positivo". La absorción de la energía de RF la realizan estas partículas de forma selectiva cuando se someten a la acción de un potente campo magnético.



Figura 57. Representación esquemática de un núcleo de H<sup>+</sup>, movimiento espín. <u>Fuente</u>: (Gili, 2016)

Los átomos que forman la materia constan de un núcleo central y una corteza que contiene electrones. En el núcleo de estos átomos, junto con los neutrones, se encuentran los protones, partículas con carga eléctrica positiva. Estas partículas giran constantemente sobre sí mismas en lo que se conoce como **movimiento de espín**. Cuando se someten a un campo magnético intenso, estas partículas pueden absorber energía de RF y, por consiguiente, se excitan. La RM se denomina así, ya que los núcleos atómicos resuenan con una frecuencia que es directamente proporcional a la fuerza del campo magnético aplicado (frecuencia de precesión de Larmor), lo que genera un alineamiento de los núcleos con el campo magnético. Esta alineación es posteriormente perturbada con el uso de un campo magnético alterno, de orientación ortogonal (perpendicular) (LaFuente y Hernández, 2016; Prasad *et al.*, 2021).

La imagen por RM presenta una alta resolución de contraste basada, fundamentalmente, en las propiedades mecano-cuánticas de los núcleos con un número impar de nucleones (protones y neutrones). Estos núcleos atómicos presentan un momento magnético no nulo y también un momento angular intrínseco. Entre estos átomos están los de hidrógeno (protones), que, además, son muy abundantes en los tejidos corporales (LaFuente y Hernández, 2016).

La RM utiliza las diferentes propiedades bioquímicas y biofísicas de los tejidos en respuesta a los pulsos magnéticos para producir imágenes. Las ondas de radio y el campo electromagnético, excitan a los protones de los átomos de hidrógeno que se encuentran en los tejidos provocando que se alineen unos con otros. Cuando la radiación electromagnética deja de emitirse, los protones se liberan y regresan a su posición inicial liberando energía en forma de ondas de radio que serán recogidas por el equipo y enviadas a un ordenador para su procesamiento en forma de imagen radiológica. Debido a que el imán principal genera un campo constante, todos los núcleos que posean el mismo momento magnético tendrán la misma frecuencia de resonancia. Esto significa que una señal que ocasione una resonancia magnética en estas condiciones podrá ser detectada, pero con el mismo valor desde todas las partes del cuerpo, de manera que no existe información espacial o información de dónde se produce la resonancia. Para resolver este problema se añaden bobinas, y cada una de

99

ellas genera un campo magnético de una cierta intensidad con una frecuencia controlada. Estos campos magnéticos alteran el campo magnético ya presente y, por tanto, la frecuencia de resonancia de los núcleos. Esta información puede ser transformada en posiciones espaciales utilizando la *Transformada Discreta de Fourier* (DFT), con la que se expresa la señal como una suma infinita de sinusoides. Utilizando esta descomposición de la señal junto con la respuesta en frecuencia obtiene la imagen (LaFuente y Hernández, 2016).

Para crear una imagen es necesaria la aplicación de pulsos de excitación de RF durante el proceso de relajación. Inmediatamente después, se mide la señal obtenida, generalmente en forma de eco. Para la obtención de estas señales de eco puede ser necesaria la aplicación de uno o más pulsos de RF, o bien de gradientes. Al conjunto de pulsos de excitación de RF y los pulsos, o gradientes de refase posteriores, necesarios para producir una señal medible, se le denomina "ciclo de pulsos". Junto a los pulsos de RF es necesaria la aplicación de gradientes de campo magnético para la localización y codificación espacial de la señal. La reconstrucción de la imagen se consigue repitiendo estos ciclos un numero de veces, rellenando la matriz de datos. Se denomina "secuencia" a la serie de ciclos de pulsos, siendo el tiempo de repetición (TR), el período que transcurre desde dos pulsos de excitación principal de una secuencia. El tiempo de eco (TE), es el que transcurre desde el pulso de excitación principal y la obtención de la respuesta en forma de eco (definidos posteriormente). Dependiendo de cómo varíen estos tiempos, obtendremos las potenciaciones en T1W, T2W y DP (densidad protónica), explicadas más adelante. Esta combinación provoca que los átomos de estos elementos se exciten y cambien su dirección, velocidad de precesión y/o giro de protones en los tejidos afectados por el campo magnético. La energía liberada durante la relajación de estos vectores se captura mediante una antena receptora que envía la señal a un equipo informático, donde se codifica para generar una imagen (LaFuente y Hernández, 2016).

El equipo de RM genera un campo magnético al cual se expone el paciente. Los protones en los tejidos o líquidos responden temporalmente de maneras específicas según la naturaleza del tejido para generar una imagen. Las imágenes son cortes bidimensionales que se pueden ver de forma simple o post-procesar para visualizarse en tres dimensiones. Los datos de la imagen se reconstruyen con un software informático para crear "secciones seriadas" o imágenes tridimensionales (Wyneken, 2005).

La máquina de RM consta de un imán que produce las señales, y de un receptor. Las máquinas de RM cerradas ofrecen una mejor resolución que las máquinas de RM abiertas. Para animales de gran tamaño, el imán en forma de rosquilla y el receptor se alojan juntos. Para animales más pequeños o secciones del animal, se pueden utilizar receptores más pequeños, denominados bobinas, para proporcionar imágenes con más resolución al aumentar la relación S/R, y reduciendo la presencia de artefactos (Wyneken, 2005).

Los equipos de RM se clasifican en tres categorías: de bajo campo (0,2–0,4 T), de medio campo (0,5–1 T), y de alto campo (> 1 T). A mayor potencia del equipo, mayor resolución de la imagen (Hayashi *et al.*, 2004). La principal desventaja de la RM de bajo campo es una relación S/R más baja en comparación con los equipos de alto campo. Esta desventaja conduce a una menor resolución espacial y temporal, lo que se traduce en tiempos de adquisición más largos (Greco *et al.*, 2023).

La RM se considera la prueba "gold standard" para estudiar el encéfalo permitiendo la aplicación de secuencias avanzadas. Sin embargo, estos sistemas presentan altos costes de adquisición, funcionamiento y mantenimiento. Los equipos de RM abiertos y de bajo campo, son los más difundidos en la práctica veterinaria debido a su relativo bajo coste, facilidad de instalación y mantenimiento. Estos sistemas especializados presentan bobinas optimizadas adaptadas a la anatomía de las especies animales, pero presentan estándares tecnológicos más bajos (Greco *et al.*, 2023).

101

## Espacio K

El espacio K es un concepto relativamente complejo, ya que se compone exclusivamente de datos o información, que no constituyen una imagen *per se*. También conocido como *matriz de adquisición o matriz de datos,* es un "espacio" donde los distintos ecos (señales), que va adquiriendo el equipo son registrados **ordenadamente** y de una **manera determinada**. Por lo que el espacio K es un lugar virtual que está dentro del ordenador del equipo de RM. La información se ordena de tal manera que los ecos de mayor intensidad de señal se colocan en el centro del espacio K, y los de menor intensidad en la periferia. Al ser organizados de esta manera, las señales centrales sirven para crear el contraste de la imagen, y las de la periferia para crear la resolución (nitidez). Por tanto, todos los ecos son válidos y necesarios para la creación de la imagen (Figura 58).



**Figura 58.** Representación del espacio K de forma analógica (1), representación del espacio K de forma digital (2). <u>Fuente</u>: www.youtube.com/@ElMundoResonanciaMagnetica.

Cada eco contiene información de toda la imagen y representa una línea del espacio K. Los ecos de alta frecuencia de precesión presentan baja intensidad de señal, por lo que serán colocados en la periferia del espacio K, mientras que los ecos de baja frecuencia de precesión presentan alta intensidad de señal, por lo que serán colocados en el centro (Figura 59).



**Figura 59.** Diagrama esquemático donde se muestran distintos tipos de ecos y la posición que ocupan en el espacio K según su frecuencia. <u>Fuente</u>: www.youtube.com/@ElMundoResonanciaMagnetica.

El espacio K presenta las mismas dimensiones que la imagen obtenida, es decir, existe una relación biunívoca entre el espacio K y la imagen real, por lo que el espacio K y la matriz de adquisición de datos es lo mismo. A modo de ejemplo, si la matriz de adquisición es de 256 x 256, el espacio K será de 256 líneas.

Posteriormente, y a través de un proceso matemático complejo (TFD), que viene incorporado en el software de adquisición de datos, esta información se convierte en una imagen contrastada de escala de grises de forma estandarizada (Figura 60).



**Figura 60.** Correspondencia entre el Espacio K y la imagen. Aunque el Espacio K y la imagen poseen información idéntica, se presentan en formatos distintos. <u>Fuente</u>: (Gili, 2016)

Dado que el espacio K es simétrico, obteniendo un poco más de información de la mitad de la cuadrícula del espacio K (60%), es posible obtener información de la imagen mediante datos sintéticos (clonados). Esto hace que se reduzca el tiempo de estudio, pero a costa de una disminución de la calidad de la imagen, pudiendo crear artefactos. Esta herramienta se denomina *Halfscan* o *Half Fourier* (dependiendo de las marcas comerciales), pudiendo configurarse el porcentaje de clonación en cada equipo de RM (Gili, 2016).

### Parámetros de adquisición de las imágenes

Se pueden clasificar las imágenes de RM en dos categorías principales: imágenes ponderadas en T1 (T1W), imágenes ponderadas en T2 (T2W) o imagen ponderada en DP. Estos términos se refieren a las propiedades biofísicas de los protones en los tejidos en respuesta a los campos magnéticos y muestran diferencias en la visualización. La imagen en T1W se obtiene cuando el TR y el TE son cortos, representando el tiempo necesario para que la magnetización longitudinal recupere el 63% de su valor inicial, dependiendo del entorno bioquímico de los núcleos de hidrógeno. La imagen en T2W, se logra cuando tanto el TR como el TE son largos. Sin embargo, si el TE se alarga demasiado, la caída de la señal puede hacer que sea difícil distinguirla del ruido de fondo. La relajación longitudinal (T1), ocurre simultáneamente con la recuperación transversal (T2), lo que significa que no hay imágenes puras de T1 o T2; todas las imágenes de RM contienen componentes de ambos. Al configurar los parámetros de exploración, se decide otorgar a cada imagen un predominio de T1 o T2, es decir, se elige la potenciación en T1 o en T2 para cada imagen. Existen muchas técnicas especializadas basadas en estos dos tipos principales de imágenes. La DP se refiere al número de protones presentes en el volumen del tejido bajo estudio. Al incrementar progresivamente el TR y mantener el TE prácticamente constante, se logra la relajación longitudinal completa entre dos tejidos distintos, minimizando el efecto del tiempo de relajación T2 gracias a un TE corto. La imagen resultante depende principalmente de la cantidad de protones en el vóxel, dando lugar a una imagen ponderada en DP. Estas imágenes, obtenidas mediante secuencias estándar, se caracterizan por contar con un TR prolongado y un TE corto (Tabla 5) (LaFuente y Hernández, 2016).

	TR Largo	TR Corto
TE Largo	T2W	
TE Corto	DP	T1W

Tabla 5. Resumen de tipos de potenciación en función de TR y TE. <br/>Fuente: Modificada<br/>de Costa y Soria (2015)

En el caso de las imágenes en T1W, cuanto más corto sea el tiempo de relajación de un tejido, es decir, menos tiempo tarden los protones en volver a su estado de reposo, más intensamente se mostrará en la imagen. Las imágenes en T1W proporcionan una mejor definición anatómica. La grasa, con un T1 corto, aparecerá más brillante (hiperintensa). Por otro lado, el líquido cefalorraquídeo (LCR) en el cerebro, con un T1 largo, se visualiza con baja intensidad (hipointenso). La sustancia gris, con un T1 más largo que la sustancia blanca, se ve con menor intensidad con respecto a ésta (Figura 61). En cuanto al T2, el tiempo de relajación se define como el tiempo que tarda en perderse el 63% de la magnetización transversal. Los tejidos con componente líquido, como el LCR, se mostrarán más brillantes en la imagen (hiperintensos) debido a un T2 largo. Las secuencias en T2W son útiles para diferenciar tejido patológico y visualizar la circulación (Figura 61). Cuando el T1 es corto, hay más señal de RM y el contraste es más brillante. En cambio, el T2 largo proporciona más señal de RM y un contraste más brillante, en contraposición con los tejidos con T2 corto, que tienen baja señal y contraste oscuro (Zufiría y Martínez, 2007; Costa y Soria, 2015; LaFuente y Hernández, 2016; Holmes y Wyneken, 2019).



Figura 61. Contrastes de los principales tejidos en cada potenciación. <u>Fuente</u>: (Gili, 2016)

Antes de iniciar las secuencias, los protones en la región bajo estudio exhiben una orientación aleatoria. Al ser expuestos a un campo magnético, tienden a alinearse en la misma dirección que dicho campo, aunque un porcentaje menor de protones adopta una orientación opuesta, generando lo que se conoce como "paralelos y antiparalelos". Aunque existen numerosas siglas y acrónimos de secuencias (muchas de ellas nombradas por las empresas comerciales de los equipos), la mayoría son modificaciones y variantes de las secuencias básicas que a continuación se describen (Sprawls, 2001).

Secuencias espín-eco (SE): son las secuencias básicas de cualquier equipo y, por tanto, las más utilizadas. Partiendo de los núcleos de hidrógeno (protones), alineados en el campo magnético, se emite un pulso de excitación inicial de 90º para inclinar el vector de magnetización longitudinal al plano transversal, y posteriormente se emiten uno o más pulsos de refase, de 180° obteniendo uno o más ecos, necesarios para la formación de la imagen (Figura 62).



Figura 62. Representación de secuencia SE. Fuente: (Sprawls, 2001)

Secuencias inversión-recuperación (IR): es una secuencia derivada del SE donde se emite un pre-pulso de 180° previo al pulso de excitación de 90°. El tiempo de inversión (TI) es el tiempo desde que se emite el pre-pulso de 180° hasta que se emite el pulso de excitación. La señal del tejido se anula si la curva de relajación T1W del tejido pasa por el cero en ese momento (Figura 63). Normalmente los dos tejidos que se anulan son la grasa y el agua. Si se anula la señal de la grasa se denomina STIR (Short Time Inversion Recovery). Si, por el contrario, lo que se anula es la señal del agua, se denomina FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery).



Figura 63. Representación de secuencia IR. <u>Fuente</u>: (Sprawls, 2001)

Secuencias eco de gradiente (GRE): son secuencias mucho más rápidas que las secuencias SE ya que se utilizan ángulos de inclinación de los vectores de magnetización denominado *Flip Angle* (FA), menores de 90°, lo que provocará una disminución evidente del tiempo de adquisición de la secuencia. En este caso, no se usan pulsos de inversión de 180°, sino una inversión del gradiente para obtener el eco (Figura 64). El FA varía entre 10° y 70°. Cuanto mayor es el ángulo (FA), mayor será la componente transversal y mayor será la señal. Inconveniente: FA alto, mayor duración del estudio.



Figura 64. Representación de secuencia IR. Fuente: (Sprawls, 2001)

La diferencia de señal entre los distintos tejidos se traduce en la resolución de contraste, que es más sensible a la de cualquier método de diagnóstico por imagen. Antes de iniciar un estudio de RM, es importante elegir cuidadosamente varios factores necesarios para obtener una optima calidad de imagen (Zufiría y Martínez, 2007).

#### Factores Extrínsecos

Estos factores son dependientes del equipo y del técnico de radiodiagnóstico, y se pueden ajustar antes de iniciar una exploración. Estos factores desempeñan un papel crucial en la calidad de la imagen (Zufiría y Martínez, 2007).

- TR: es el intervalo entre dos secuencias de pulsos de RF, medido en milisegundos (ms). Un TR largo aumenta el número de cortes y la intensidad de la señal, pero alarga el tiempo de exploración y disminuye el contraste en T1W. Por otro lado, un TR corto proporciona mayor contraste en T1W, acorta el tiempo de exploración, generando menos cortes y, por lo tanto, una menor intensidad de señal.
- TE: es el intervalo entre un pulso de RF y la lectura del eco, medido en ms. Un TE largo incrementa el contraste en T2W y reduce la intensidad de la señal. Un TE corto aumenta la intensidad de la señal y disminuye el contraste en T2W.
- Número de adquisiciones o excitaciones (NEX): determina la frecuencia con la que se mide la señal para la reconstrucción de imágenes. Al aumentar el NEX, se mejora la relación S/R resaltando la señal principal sobre el ruido de fondo y mejorando la calidad de las imágenes. No obstante, este beneficio se acompaña de un aumento significativo en el tiempo de examen. Por otro lado, la reducción del NEX acelera la adquisición de imágenes, proporcionando eficiencia y rapidez, pero a costa de disminuir la relación S/R, y afectando potencialmente la calidad de la imagen.
- Matriz (MAT): una vez adquiridas las señales en el espacio K, se genera la matriz (MAT), siendo el número de líneas que constituyen la imagen. Las líneas, mediante el software de adquisición de datos, se convierten en píxeles. Incrementar la MAT tiene como resultado una mejora en la resolución espacial, destacando detalles más finos en la imagen. Sin embargo, este beneficio viene acompañado de un aumento en el tiempo de examen y una disminución en la intensidad de la señal.
- Campo de visión (FOV): Es el tamaño del área a estudiar y se representa en la imagen reconstruida. Aumentar el FOV amplía el campo de visión y aumenta la señal, pero también reduce el riesgo de artefactos por envolvimiento y la

resolución espacial. Reducir el FOV mejora la resolución espacial, pero disminuye la señal y aumenta el riesgo de artefactos por envolvimiento.

- Número de cortes: se refiere a la cantidad de imágenes programadas para abarcar la región bajo estudio. La decisión de cuántos cortes realizar tiene un impacto directo en la resolución tridimensional de la estructura anatómica observada en cada sección corporal. Cuantos más cortes se realicen, mejor será la capacidad para obtener una representación tridimensional detallada de la región específica, brindando una visión más completa de la anatomía en estudio.
- Distancia entre los cortes: Es la distancia entre un corte y otro o entre una imagen y otra. Reducir la distancia entre cortes disminuye la resolución de contraste y la relación S/R.
- Grosor de corte: Es el grosor de cada corte programado o imagen adquirida, medido en milímetros. Aumentar el grosor de corte aumenta la señal en todos los tejidos, disminuye la resolución espacial y aumenta el efecto de volumen parcial. Reducir el grosor de corte tiene el efecto contrario.
- Flip Angle (FA): Es el ángulo utilizado para indicar el vector de magnetización longitudinal.
- **Tipo de bobina:** La elección del tipo de bobina afecta la resolución espacial y el contraste de la imagen, así como a la susceptibilidad de generar artefactos.
- Tiempo de adquisición (TA): Es el tiempo que se tarda en obtener una imagen o secuencia de imágenes. Se define a partir del TR, el número de codificaciones de fase (N), y el NEX. Se calcula mediante la fórmula:

 $TA = TR \cdot N \cdot NEX$ 

#### Factores Intrínsecos

Son aquellos que están ligados al tejido objeto de estudio y, por tanto, no dependen del equipo o personal técnico, por lo que no pueden ser manipulados externamente. Todas las imágenes obtenidas mediante RM incluyen de manera inherente componentes tanto de T1 como de T2. La selección adecuada de los parámetros de exploración determina si una imagen resalta predominantemente las características de T1W, de T2W, o logra una combinación apropiada de ambos: ponderada en DP (Zufiría y Martínez, 2007).

#### Ventajas e inconvenientes

La RM presenta diversas *ventajas* en comparación con otros métodos de diagnóstico por imagen. La principal ventaja está relacionada con el **excelente contraste de tejidos blandos, útil para distinguir entre materia blanca y gris o estructuras articulares** (cartílago, ligamentos, meniscos). Tiene una alta sensibilidad, ya que la mayoría de las patologías confieren modificaciones en los tejidos (inflamación, edema, etc.). Además, la RM no utiliza radiaciones ionizantes, a diferencia de la radiografía y la TC. Asimismo, cabe destacar que es una prueba **indolora** y **no invasiva**, que permite obtener cortes o planos en cualquier dimensión del espacio, lo que elimina la superposición de estructuras y proporciona una visión más detallada de la anatomía (Greco *et al.*, 2023).

La capacidad de la RM para visualizar tejidos blandos y fluidos es notablemente superior en comparación con la TC. Esto se debe a que la imagen de RM se basa en la concentración de protones en un determinado tejido (H<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), presentes en fluidos y tejido graso. Esto la hace especialmente útil en el estudio de estructuras como el sistema nervioso central, articulaciones y órganos internos.

Sin embargo, la RM también presenta algunos *inconvenientes*. Uno de ellos es el **tiempo prolongado de exploración**, lo que puede resultar incómodo para algunos pacientes. Además, existen limitaciones en ciertos casos, como en **pacientes con implantes o marcapasos**, ya que estos dispositivos pueden interferir con el funcionamiento adecuado de la RM. En este sentido, se han desarrollado dispositivos médicos e

111

implantes, tales como reemplazos articulares, implantes espinales, marcapasos y desfibriladores cardioversores implantables que son compatibles con la RM. La implementación de software avanzado, como *"ScanWise Implant"*, ha facilitado la realización de estudios de RM en pacientes que cuentan con estos tipos de implantes. Además, se observa una tendencia emergente hacia el desarrollo de nuevos materiales de implantes diseñados específicamente para ser compatibles con la RM, existiendo publicaciones y manuales que detallan las referencias de los implantes aptos y no aptos para estudios de RM (Figura 65) (Shellock, 2018; Prasad *et al.*, 2021).



Figura 65. (Shellock, 2020, 2019 y 2018)

Además, también se debe tener en consideración que los pacientes sometidos a estudios de RM requieren **anestesia general prolongada**, ya que la inmovilidad es esencial para obtener imágenes precisas (Gumpenberger, 2021).

Por otro lado, es crucial evitar la presencia de estructuras metálicas, sobre todo aleaciones de éstas, próximas al equipo de RM, ya que podría ser bruscamente atraídas hacia el campo magnético del equipo, ocasionar serios procesos traumáticos al paciente, y/o calentarse durante el estudio, provocando molestias, quemaduras, o generando artefactos significativos en la imagen que podrían ocultar el área de interés. Los microchips implantados cerca de la columna cervical o el encéfalo suelen estar asociados con artefactos de susceptibilidad siendo más marcados en pacientes con volumen/diámetro cervical reducido (Wyneken, 2005; Greco *et al.*, 2023).

## Artefactos en RM

Los artefactos en RM, al igual que en otras técnicas de imagen, son imperfecciones no deseadas en las imágenes que pueden originarse a partir de diversas fuentes y tienen el potencial de disminuir la calidad de las imágenes, complicando así su interpretación clínica.

- Artefacto de solapamiento o *aliasing:* ocurre cuando la estructura anatómica que se encuentra fuera del FOV se proyecta/duplica al otro lado de la imagen (Figura 66). Se debe a que una determinada área localizada dentro del FOV tiene asignado un periodo de fase especifico. Mientras que a la estructura localizada fuera del FOV se le asigna la misma fase también, causando solapamiento de la imagen. Se soluciona aumentando el FOV, ajustando la posición de las estructuras a examinar, o saturando el área fuera del FOV que puede ser susceptible de solapamiento (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



**Figura 66.** Artefacto de solapamiento o *aliasing* (flecha). <u>Fuente</u>: (Gwiazdowski *et al.*, 2021)

Artefactos de movimiento: los protones cambian de posición entre los impulsos emitidos, por lo que se perturba su posicionamiento en el espacio K y provoca la pérdida de nitidez de las estructuras y/o formación de imágenes fantasma (Figura 67). Como solución se propone una adecuada preparación del paciente (anestesia general), reducir el tiempo de adquisición utilizando secuencias mas rápidas, exploración sincronizada con los movimientos respiratorios y el ritmo cardiaco (Sartori *et al.*, 2015; Gwiazdowski *et al.*, 2021).



Figura 67. Artefactos de movimiento. <u>Fuente</u>: (Gwiazdowski *et al.,* 2021)

Artefacto de cremallera: se observa como líneas y puntos, blancos y negros alternantes (Figura 68). Esta relacionado con la influencia de fuentes de ondas electromagnéticas externas como móviles o radio. Ocurre en la dirección de la codificación de la frecuencia. Para evitarlo se recomienda verificar la integridad de la habitación (jaula de Faraday), y cerrar completamente las puertas de la sala de RM (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



Figura 68. Artefacto de cremallera. <u>Fuente</u>: (Gwiazdowski *et al.*, 2021)

Artefactos de susceptibilidad magnética: se observa como un área hipodensa en la cabeza del núcleo caudado a causa de depósitos de hemosiderina (Figura 69). Las sustancias paramagnéticas (hemoglobina y oxigeno), y ferromagnéticas (hierro, cobalto y níquel), causan distorsión del campo magnético reduciendo la intensidad de la señal recibida. En aquellas secuencias que dependen del nivel de oxigenación de la sangre (BOLD), este artefacto permite la adquisición de las imágenes. Para evitarlo, se recomienda usar un equipo de RM de bajo campo, usar las secuencias SE o usar un software de reducción de artefactos (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



Figura 69. Artefacto de susceptibilidad magnética. Fuente: (Gwiazdowski *et al.*, 2021)

Artefacto de desplazamiento químico tipo I: ocurre debido a las diferencias entre la frecuencia de precesión de protones de agua y grasa que causan un registro erróneo en la dirección de codificación de la frecuencia. Se observa como una banda de hiperseñal en el lado de baja frecuencia y una banda de hiposeñal en el lado de alta frecuencia (Figura 70). Para limitar su aparición se propone usar un equipo de RM de bajo campo, dado que el artefacto depende de la fuerza del campo electromagnético, usar la saturación de la grasa, y reducir el tamaño del vóxel (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



Figura 70. Artefacto de desplazamiento químico tipo I. Banda oscura (flecha) y banda clara opuesta (punta de flecha) en los márgenes del canal espinal. <u>Fuente</u>: (Gwiazdowski *et al.*, 2021)

Artefacto de desplazamiento químico tipo II o de tinta china: se observa un borde hipointenso alrededor de las estructuras abdominales en secuencias fuera de fase (Figura 71). Se debe a la ausencia de señal en los vóxeles que contienen grasa y agua en el borde de los tejidos. Para evitarlo se propone cambiar los valores de TE, utilizar las secuencias espín-eco o utilizar la saturación de la grasa (STIR) (Gwiazdowski *et al.*, 2021).



**Figura 71.** Artefacto de desplazamiento químico tipo II. <u>Fuente</u>: (Gwiazdowski *et al.,* 2021)

#### Resonancia Magnética en Reptiles

La RM se ha consolidado como una herramienta de diagnóstico por imagen altamente precisa y específica para examinar los tejidos blandos, incluyendo aplicaciones en diversas especies de reptiles y aves, consolidando su posición como una herramienta valiosa en el ámbito clínico y de investigación veterinaria. Sin embargo, este método implica un proceso que puede ser relativamente lento, llevando desde varios minutos hasta horas, dependiendo del equipo utilizado y la región a evaluar. Asimismo, se hace indispensable la inmovilización del paciente, lo cual demanda la presencia de personal especializado en anestesiología (Schmidt *et al.*, 2020).

Inicialmente, los estudios de RM en veterinaria involucraban el cráneo del perro y, posteriormente se comenzaron a emplear en la investigación de patologías medulares y ortopédicas. Actualmente, la RM es la prueba "gold standard" para evaluar las estructuras blandas. Aunque en medicina veterinaria de reptiles la RM no está tan extendida como en mamíferos domésticos, existen publicaciones que la han utilizado, proporcionando información valiosa sobre las estructuras anatómicas y patologías específicas de estas especies. La capacidad de la RM para evaluar tejidos blandos, como músculos, ligamentos, tendones y articulaciones, ha sido demostrada en mamíferos y se puede extrapolar a reptiles (Greco *et al.*, 2023). La RM ofrece una resolución de contraste superior y es especialmente adecuada para el estudio de estructuras de tejido blando, permitiendo la adquisición de imágenes en múltiples planos. Aunque estos métodos se han aplicado de manera rutinaria en pequeños animales de compañía, se requieren ajustes para adaptarse a las especies exóticas debido a sus diferencias anatómicas. Además, su menor peso corporal también puede influir en la calidad de la RM y la TC (Wyneken, 2005; Głodek *et al.*, 2016; Kari D. *et al.*, 2022).

#### Resonancia Magnética en Quelonios

En los pacientes quelonios, la calidad de las imágenes por RM permanece intacta a pesar de la presencia del caparazón, lo que permite obtener detalles precisos de las estructuras de tejidos blandos.



**Figura 72.** Estudio de RM de tortuga. El equipo de RM cerrado tiene como su componente más grande un imán de forma circular. Para animales de pequeño tamaño como esta tortuga, una bobina receptora más pequeña montada dentro del soporte proporciona imágenes de mejor calidad. <u>Fuente</u>: (Wyneken, 2005)

La orientación de la cabeza, el cuello y las extremidades juega un papel crucial en los estudios de RM en estos pacientes (Figura 72). En investigaciones con tortugas de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*), se observaron variaciones en el volumen pulmonar debido a la ocupación del espacio durante la retracción en el caparazón, lo que sugiere que las posiciones y tamaños de los órganos pueden cambiar durante los procedimientos de RM en función de la posición del animal y la orientación de la cabeza, el cuello y las extremidades. Por lo tanto, un buen posicionamiento de la cabeza y las extremidades durante el estudio es esencial. Muchas tortugas tienden a retraer la cabeza, el cuello y las extremidades como mecanismo de defensa, lo que ocasiona cambios en las posiciones y tamaños de los órganos. Para garantizar una posición adecuada, se considera fundamental sedar o anestesiar a los pacientes quelonios (Wilkinson *et al.*, 2004; Silverman, 2006; Mathes *et al.*, 2017).

Para profundizar en el estudio anatómico, las imágenes de RM de la cabeza y los órganos intracelómicos de diversas especies de quelonios se han comparado con secciones anatómicas congeladas, y algunos autores, las han utilizado para crear atlas de anatomía de RM de tortugas marinas, como la tortuga verde (*Chelonia mydas*) (Croft *et al.*, 2004), y la tortuga boba (*Caretta caretta*) (Arencibia *et al.*, 2012); tortugas terrestres, como la tortuga mediterránea (*Testudo hermanni*); y tortugas de agua dulce, como la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*), la tortuga de vientre amarillo (*Trachemys scripta scripta*), la tortuga de la llanura costera (*Pseudemys concinna floridana*), y la tortuga jeroglífica (*Pseudemys concinna hieroglyphica*) (Mathes *et al.*, 2017).

Algunos autores han detallado mediciones precisas del corazón, hígado, vesícula biliar y riñones en planos sagitales, transversales y dorsales. A su vez, también se han detallado la posición relativa en la cavidad celómica, y las intensidades de señal de los riñones e hígado mediante RM, para especies comunes de tortugas de agua dulce como mascotas en América del Norte: la tortuga de orejas rojas (Trachemys scripta elegans), la tortuga de vientre amarillo (Trachemys scripta scripta) y la tortuga de la llanura costera (Pseudemys concinna floridana). Para llevar a cabo estas mediciones, los individuos examinados fueron colocados en una bobina para extremidades, en el caso de especies más pequeñas, y en una bobina para cráneo, en el caso de tortugas más grandes. Los estudios de RM se realizaron con un equipo de RM de 1T que comprendían series de imágenes que incluían planos transversales, dorsales y sagitales, con un grosor de 3-4mm, con protocolos en T1W y T2W. Las imágenes en T1W tuvieron los mejores resultados para las mediciones de la mayoría de las estructuras, incluyendo el corazón, hígado, vesícula biliar, riñones y músculos (Figura 73). La necropsia posterior confirmó que las imágenes de RM proporcionaban representaciones adecuadas de los órganos internos (Summa et al., 2014; Mathes et al., 2017).



**Figura 73.** Imágenes de RM en T1W en plano transversal de un macho de tortuga de orejas amarillas utilizadas para determinar las dimensiones dorsoventral (A), y laterolateral (B), de los riñones. <u>Fuente</u>: (Mathes *et al.*, 2017)

Por otro lado, las patologías pulmonares se observan con mayor claridad en planos dorsales y transversales en T2W y DP, teniendo en cuenta que, para una mejor visualización del tejido pulmonar, es más adecuada la TC. En exploraciones de RM en quelonios con enfermedad respiratoria, hay autores que han descrito una reacción inflamatoria de leve a moderada en los pulmones, con posibilidad de visualizar sangrado (Straub y Jurina, 2001). En la RM, las colecciones de líquido aparecerán hiperintensas en imágenes en T2W. En caso de dudas, se debe realizar una secuencia STIR. Hallazgos similares se han documentado en tortugas marinas afectadas por la aspiración de agua salada y el ahogamiento. La detección de sangre en la RM presenta distintas cualidades según la etapa de degradación de la sangre, y viene determinada por las propiedades paramagnéticas de la hemoglobina, hemosiderina y otros metabolitos. El sangrado agudo es complejo de detectar, mientras que los sangrados crónicos son mayormente identificables como señales hiperintensas en imágenes en T1W, T2W y DP (Tabla 6).

Hematoma	Edad	Imagen T1	Imagen T2
Hematoma hiperagudo	< 1º día	Isointeso	Hiperintenso
Hematoma agudo	1-3 día	Hipo-isointenso	Hipointenso
Hematoma subagudo precoz	4-7 día	Hiperintenso	Hipointenso
Hematoma subagudo tardío	8-14 día	Hiperintenso	Hiperintenso
Hematoma crónico	> 14 día	Hipointenso	Hipointenso

Tabla 6. Intensidades de las hemorragias intracraneales espontáneas en RM. <br/>Fuente: (Gálvez M et al., 2007)

Es fundamental que el grosor de la sección no exceda los 5mm, ya que esto contribuye a mejorar la resolución del músculo cardíaco, los principales vasos sanguíneos, así como el estómago, intestinos, hígado, vejiga y riñones. Los tejidos pulmonares presentan una intensidad de señal extremadamente baja, lo que permite la visualización eficaz del septo pulmonar. Sin embargo, las reacciones inflamatorias leves en los pulmones pueden ser identificadas mediante las imágenes de la RM (Głodek *et al.*, 2016).

Las afecciones del sistema urinario son comunes en reptiles, y la aparición de diversos trastornos, como la gota, nefritis o uro/cistolitiasis, pueden estar relacionada con prácticas de manejo inadecuadas. Además, la neoplasia del tracto urinario se ha descrito en diferentes familias de reptiles y son diagnósticos diferenciales importantes (Schmidt et al., 2020). Una publicación reveló mediante estudios de RM y TC una masa heterogénea parcialmente mineralizada, localizada en el aspecto derecho de la cavidad celómica de una tortuga rusa (Testudo horsfieldii). La masa pudo ser identificada mediante RM observándose que la parte sólida estaba notablemente mineralizada. El contenido de la parte cavitada presentaba una alta intensidad de señal en T2W y FLAIR, y una intensidad de señal heterogénea en T1W (Figura 74). La efusión celómica pudo diferenciarse mejor de los órganos circundantes en las imágenes de RM que en las imágenes de TC. Dada la heterogeneidad de la lesión, el diagnóstico diferencial principal fue de proceso neoplásico, y la mineralización parcial sugirió carcinoma. El examen histopatológico de la masa extirpada quirúrgicamente, que representaba el riñón derecho y el izquierdo, dio como resultado carcinoma urotelial, siendo, hasta donde se sabe, la primera vez que se describe en la pelvis renal de una tortuga (Hetterich et al., 2022).



**Figura 74.** Carcinoma urotelial, cavidad celómica, tortuga rusa (*Testudo horsfieldii*). La imagen transversal de TC en algoritmo tejido blando (A), y la secuencia *FLAIR* en plano transversal de RM (B), indican posición y forma de los quistes en el riñón izquierdo. (C) Imagen MPR dorsal de TC en algoritmo tejido blando, que muestra la masa que presenta una parte más sólida e irregular de la masa intracoelómica en la región craneal derecha de la cavidad celómica. La parte cavitada de la masa contiene septos irregulares parcialmente mineralizados. (D) Plano dorsal de RM, secuencia dorsal *FLAIR*. 1: masa, 1a: porción cavitada, 1b: porción sólida, 2: quistes, 3: vejiga urinaria, 4: efusión celómica. <u>Fuente</u>: (Hetterich *et al.*, 2022)

Estudios recientes revelan una mayor prevalencia de tumores en reptiles, al contrario de la creencia anterior. Un estudio clínico realizado en una tortuga griega (*Testudo graeca*), empleó un equipo de RM de 0.5T, con imágenes en secuencias SE en T1W, y secuencias FAST-SE en T2W, en planos dorsal y transversal, revelando una masa hiperintensa en T2W, e hipointensa en T1W, identificada mediante histopatología *postmortem* como proceso neoplásico testicular (Figura 75). La RM permitió evaluar la dimensión, estructura de la lesión y la identificación de las alteraciones testiculares (Pees *et al.*, 2015).



**Figura 75.** Imágenes de RM de la masa localizada en el aspecto caudal de la cavidad celómica en planos transversales (A, B), y dorsal (C, D), en T1W (A), y en T2W (B–D). 1: masa testicular, 2: intestinos, 3: columna vertebral, 4: testículo normal, 5: hígado. <u>Fuente</u>: (Pees *et al.*, 2015)

La fibropapilomatosis es una enfermedad común en tortugas verdes salvajes (Chelonia mydas), si bien se ha identificado en otras especies de tortugas marinas, como en tortugas bobas (Caretta caretta). Las tortugas afectadas suelen presentar múltiples tumores fibroepiteliales cutáneos benignos que pueden desarrollarse en diversas regiones anatómicas, con tamaños que varían desde unos pocos milímetros hasta más de 20 centímetros de diámetro. Además de los tumores cutáneos, también pueden desarrollarse fibromas en varios órganos internos, como pulmones, riñones, hígado y tracto gastrointestinal. Estos fibromas tienden a aumentar de tamaño lentamente y su presencia se considera un indicador pronóstico importante a tener en cuenta para la supervivencia, ya que pueden causar cambios patológicos significativos en los órganos afectados o generar daño mecánico en los tejidos circundantes. Debido al dudoso pronóstico asociado, las tortugas con tumores internos a menudo se sacrifican. Dada la condición de vulnerabilidad de la mayoría de las especies de tortugas marinas, evaluar el valor de estas técnicas diagnósticas, especialmente la RM, podría ser crucial para determinar la mejor aproximación del diagnóstico, tratamiento y rehabilitación de tortugas enfermas o lesionadas. Por ello, hay autores que han descrito la anatomía de las tortugas verdes mediante imágenes por RM (Figuras 76 y 77), para detectar tumores internos y comparar con los hallazgos en el examen *postmortem* (Croft *et al.*, 2004; Madsen *et al.*, 2017).



**Figura 76.** A y C) Imágenes macroscópicas de la cavidad celómica de 2 cadáveres de tortugas verdes; B y D) imágenes de RM en plano dorsal ponderadas en T1W (B), y T2W (D), de la cavidad celómica, en la tortuga con fibropapilomas cutáneos, pero sin evidencia de anormalidades internas mediante RM. (B y D) se observan las diferencias en la intensidad de la señal del tejido entre la imagen ponderada en T1W y la imagen ponderada en T2W. Se pueden identificar el estómago (S), lóbulo derecho del hígado (RL), lóbulo izquierdo del hígado (LL), vesícula biliar (GB), bazo (SP), intestinos (I), riñón derecho (RK), glándula adrenal derecha (RA), riñón izquierdo (LK), vejiga urinaria (UB), corazón (H), y músculo esquelético (SM). <u>Fuente</u>: (Croft *et al.*, 2004)


**Figura 77.** A) Imagen de RM en T2W en plano dorsal de los pulmones de tortuga en la que no se detectaron nódulos pulmonares; B) imagen de RM en T1W en plano dorsal de los pulmones de otra tortuga en la que se detectaron fibromas pulmonares; C) imagen macroscópica en vista dorsal de los hallazgos de necropsia en la tortuga en la que los pulmones son normales; D) imagen macroscópica en vista dorsal de los hallazgos de necropsia en la tortuga afectada. RL = Pulmón derecho. LL = Pulmón izquierdo. PV = Vascularización pulmonar. PB = Bronquio primario. N = Nódulo. Fuente: (Croft *et al.*, 2004)

Debido a los impactos antropogénicos, existen publicaciones que han resaltado la importancia de la RM en la evaluación de lesiones esofágicas y obstrucciones causadas por la ingestión de cuerpos extraños como residuos plásticos, que quedan alojados entre las papilas digestivas esofágicas que pueden alcanzar hasta 2.5cm, y que ocultan la mucosa subyacente, así como dichos cuerpos extraños de pequeño tamaño. Mediante las secciones anatómicas, se confirmó que las papilas están compuestas por proyecciones de la submucosa y tienen una superficie externa cubierta por un epitelio queratinizado delgado, que no se visualizó debido a la falta de señal. La señal hiperintensa en las imágenes en T2W sugiere presencia de agua en la submucosa (Figura 78), visible de aspecto brillante en las secciones anatómicas (Arencibia *et al.*, 2012).

Por otro lado, la presencia de anzuelos de pesca, que afectan no solo a la mucosa sino también a la submucosa y a las capas musculares, conlleva a un estrechamiento del lumen debido a reacción inflamatoria y fibrosis, prolongando el proceso de cicatrización. Los autores recomiendan la RM como parte de un protocolo de liberación para evaluar la regresión de la inflamación tras la extracción quirúrgica o endoscópica de anzuelos, contribuyendo a reducir las estancias prolongadas de las tortugas marinas en centros de recuperación (Arencibia *et al.*, 2012).



**Figura 78.** (A y B) Planos dorsales en T2W con sus correspondientes secciones anatómicas (C y D) 1 = estómago, 2 = hígado, 3 = duodeno, 4 = vesícula biliar, 5 = ventrículo, 6 = riñón, 7 = bazo, 8 = vena hepática derecha, 9 = páncreas. <u>Fuente:</u> (Arencibia *et al.*, 2012)

Publicaciones con equipos más avanzados han realizado mediciones del volumen sistólico y volumen diastólico ventricular mediante RM con electrocardiograma (Figura 79). Este enfoque permitió calcular la fracción de eyección en la tortuga de patas rojas (*Chelonoidis carbonarius*), dando resultados superiores al 85%, lo cual es considerablemente mayor que en los mamíferos. Los miocitos del corazón esponjoso de los ectotermos se acortan aproximadamente en un 20% durante la contracción, por lo que se cree que la fracción de eyección muy alta del corazón de vertebrados ectotermos se debe posiblemente a la naturaleza efectiva de muchas pequeñas cámaras dentro del

miocardio esponjoso, que pueden generar presión y vaciarse casi por completo sin ejercer una gran presión sobre los miocitos debido a la ley de Laplace (Williams *et al.*, 2019).



**Figura 79.** Imágenes RM ECG-gated (A) Imágenes de módulo y velocidad muestran ROIs colocadas sobre el plano periaxial de arterias principales, durante la contracción ventricular. Las imágenes en individuo con atropina, mostrando un flujo temprano de alta velocidad en las arterias pulmonares (áreas blancas en la imagen de velocidad). 1, arteria pulmonar izquierda; 2, arteria pulmonar derecha; 3, aorta izquierda; 4, rama derecha de la aorta 1; 5, rama derecha de la aorta 2. (B) Flujo (ml s–1 kg–1) en el tiempo (s). Las imágenes son de sístole ventricular máxima (panel superior) y la diástole (panel inferior). H, cabeza/craneal; F, pie/caudal; R, derecho; L, izquierdo; A, anterior/ventral; P, posterior/dorsal. <u>Fuente</u>: (Williams *et al.*, 2019)

## Resonancia Magnética en Lagartos

Las indicaciones para el examen de RM en reptiles lagartos abarcan desde la detección de disfunciones neurológicas o traumatismos hasta la evaluación de órganos celómicos y posibles masas (Fazio, 2021). Para la exploración de RM, el paciente se coloca en decúbito ventral de manera lo más simétrica posible (Figura 80) (Knotek *et al.*, 2018).



**Figura 80.** Equipo de RM *Esaote* de bajo campo, abierto, en estudio de iguana verde (*Iguana iguana*). <u>Fuente</u>: (Knotek *et al.*, 2018).

Los estudios de RM en lagartos se han documentado en la exploración del tracto respiratorio, hígado, tracto gastrointestinal y tracto urogenital. En imágenes en T1W, el tejido adiposo tiene una intensidad de señal muy alta (hiperintensa), mientras que los fluidos tienen baja intensidad de señal (hipointensa). En contraste, en imágenes en T2W, el líquido libre tiene alta intensidad de señal y la grasa tiene intensidad de señal mediaalta. Generalmente, la imagen en T1W se utiliza para la evaluación de estructuras que contienen más grasa, mientras que la imagen en T2W se utiliza para la evaluación de ascitis, exudados inflamatorios y efusiones. Se puede lograr una mejora de la imagen con el uso de compuestos paramagnéticos inyectables por vía intravenosa (Gadolinio, lantánido, a dosis: 0,1mmol/kg IV). En un período de 20 a 30 minutos, se obtiene un estudio de RM, el cual posee suficientes imágenes para construir un volumen tridimensional de la estructura interna del paciente, por lo que se requiere que permanezca inmóvil durante el proceso, evitando cualquier imagen artefactual debida al movimiento (Fazio, 2021).

La RM, así como la TC, son técnicas de diagnóstico especialmente valiosas para visualizar procesos neoplásicos, ya que son considerablemente más sensibles que las radiografías para evaluar el origen, la extensión o la afectación de órganos circundantes. Los procesos neoplásicos representan una forma significativa de enfermedad en los lagartos, y los órganos celómicos más frecuentemente afectados incluyen el sistema hematopoyético, el sistema hepático, la piel y el sistema musculoesquelético (Hernandez-Divers y Garner, 2003).

Se han realizado investigaciones que emplean la RM para la identificación de masas en la cavidad celómica de estas especies. Se ha documentado el diagnóstico de una masa en el lóbulo hepático izquierdo de una iguana verde, causando el desplazamiento de otros órganos abdominales. En el estudio de RM, la vesícula biliar no era discernible, el parénquima hepático exhibía una intensidad de señal iso/hiperintensa, y la región ventro-medial del lóbulo izquierdo presentaba una señal hipointensa, aunque sin una delimitación clara del lóbulo hepático izquierdo. Se evidenció una señal de fluido libre alrededor del hígado. No se pudo distinguir el páncreas y el bazo del resto de órganos celómicos. Los hallazgos en el hígado indicaban la posibilidad de fibrosis/cirrosis hepática, proceso neoplásico y/o inflamatorio difuso, por lo que fue esencial obtener una biopsia hepática para examen histopatológico a fin de confirmar el diagnóstico (Knotek *et al.*, 2011).

Por otro lado, se ha observado que la subluxación cervical y la mielopatía compresiva podrían ser factores contribuyentes a la morbilidad y mortalidad en dragones de Komodo cautivos (*Varanus komodoensis*). Un estudio detalló casos que involucraron anomalías en las vértebras cervicales craneales, especialmente C1-C3. Las presentaciones variaron desde escoliosis hasta dificultad en la flexión o extensión cervical, ataxia hasta tetraplejía. En tres de los casos, se sugirió un origen traumático, aunque solo en uno se evidenció dicho proceso. El diagnóstico definitivo requirió técnicas de diagnostico por imagen avanzadas (TC y RM). La patogénesis en estos casos

sigue siendo incierta, ya que solo se pudo confirmar un origen traumático en uno de los dragones, que experimentó una caída relativamente corta de 0.75 metros. Los autores postulan la posibilidad de que esta especie esté predispuesta anatómica o patogénicamente, o ambas, a la subluxación cervical. La anatomía cervical normal de un dragón de Komodo, que incluye **un solo cóndilo occipital y una sola superficie articular intervertebral**, podría hacerlos más susceptibles a la inestabilidad cervical o subluxación, que podría resultar de manipulaciones bruscas del cuello o trauma contundente en esa región (Figura 81). Otras posibles causas podrían incluir deformidades vertebrales, articulares o ligamentosas que lleven a la inestabilidad o subluxación vertebral, aunque no se observaron deformidades evidentes en los animales de este estudio (Zimmerman *et al.*, 2009).



**Figura 81.** Imagen de RM plano sagital, en T1W-FLAIR, de un dragón de Komodo revelando subluxación atlanto-axial y la consecuente compresión de la médula espinal ventral en C1-C2 (TE: 8.7, TR: 2,500). <u>Fuente</u>: (Zimmerman *et al.*, 2009)

El interés en la neurobiología de los reptiles escamosos está en constante crecimiento, abarcando tanto investigaciones focalizadas en especies individuales como estudios comparativos. La posibilidad de visualizar el sistema nervioso de estos animales de manera rápida y no invasiva en cráneos, e incluso en especímenes vivos, facilita enormemente los estudios sobre la anatomía y evolución cerebral. Así, la RM se

presenta como una técnica idónea para lograr esta visualización, y supera algunas de las limitaciones de los métodos histológicos tradicionales, como la destrucción del tejido, la distorsión de la morfología causada por el procesamiento y los protocolos laboriosos, ya que permite observar las regiones cerebrales y los tractos de fibras desde múltiples orientaciones a lo largo de su extensión rostro-caudal. En ese sentido, la RM ha sido empleada para la creación de atlas del sistema nervioso central en diversas especies de lagartos, con el objetivo de mejorar las capacidades diagnósticas en casos de disfunción neurológica. Para una comprensión detallada de la anatomía del encéfalo de los reptiles para fines evolutivos hay publicaciones que han utilizado equipos de RM de ultra alto campo (11.74T), para crear un atlas tridimensional y un atlas segmentado de alta resolución del encéfalo del dragón pardo australiano (Ctenophorus decresii), que ha sido objeto de numerosos estudios ecológicos y conductuales. Se entiende por atlas segmentado a un conjunto de imágenes anatómicas procesadas y divididas en segmentos anatómicos distintas, es decir, cada área ha sido identificada y delimitada en diferentes regiones para proporcionar una referencia detallada de las diversas partes del encéfalo. El modelo se puede descargar y visualizar en línea libremente utilizando el servidor "Wiley Biolucida" en wiley.biolucida.net, permitiendo una mejor comprensión de las áreas encefálicas, núcleos y tractos de fibras, que facilitan la comparación con otras especies y establecen las bases para futuros estudios comparativos de imágenes. Esta metodología ha posibilitado la identificación de más de 200 estructuras anatómicas (Figura 82), incluyendo áreas microscópicas como núcleos y tractos de fibras, así como demostrar la posición del encéfalo, que se encuentra rotado en 28 grados respecto al plano horizontal (Figura 83). En dichos estudios los bulbos olfatorios perdieron su estructura en relación con el resto del encéfalo, por lo que fueron excluidos del análisis (Hoops et al., 2018, 2021).



**Figura 82.** Las divisiones del encéfalo del dragón pardo según diferentes modelos de organización cerebral. Se han delineado las principales subdivisiones neurales según los modelos neuromérico y columnar de organización cerebral en (a) secciones coronales seleccionadas y (b) una sección sagital para demostrar cómo estos diferentes modelos dividen el cerebro. El texto blanco etiqueta las principales subdivisiones neurales rostro-caudales, delineadas por líneas blancas discontinuas. El texto amarillo etiqueta las principales subdivisiones neurales dorso-ventrales, delineadas por líneas amarillas discontinuas. El texto negro etiqueta designaciones regionales menores comúnmente utilizadas dentro de las principales subdivisiones. El plano de cada sección según nuestro sistema de coordenadas se indica en la esquina inferior izquierda. hp = prosómero hipotalámico, m = mesómero, p = prosómero, r = rombómero.<u>Fuente</u>: (Hoops *et al.*, 2018)



**Figura 83.** Representación volumétrica de RM del encéfalo del dragón pardo (*Ctenophorus drecresii*). El encéfalo dentro del neurocráneo se encuentra rotado 28°en el plano x. <u>Fuente</u>: (Hoops *et al.,* 2018)

Del mismo modo, usando equipos de ultra alto campo (11.74T), otras publicaciones se han centrado en el estudio del volumen encefálico de estos dragones pardos para valorar las evoluciones del encéfalo abordando diversas funciones como el comportamiento, la percepción, el control motor y la homeostasis (ecomorfotipo). Cada función ejerce presiones selectivas únicas a lo largo de la evolución afectando inevitablemente la estructura cerebral (Figura 84). Por ejemplo, se encontraron asociaciones entre el ecomorfotipo y el volumen del tectum y del rombencéfalo, observándose que ocupaban mayor volumen en especies excavadoras que en corredoras y habitantes de rocas. Aunque estas variaciones sugieren cambios evolutivos selectivos, se requiere investigación adicional para comprender las causas y consecuencias específicas de estos cambios en la función cerebral, cognición y comportamiento (Kari D. *et al.*, 2022).



**Figura 84.** Delimitaciones de las 6 subdivisiones neurales superpuestas en el modelo de RM del encéfalo del dragón pardo (*Ctenophorus decresii*). Se han etiquetado secciones transversales de izquierda a derecha anterior-posterior (a-c), una sección dorsal (d), y una sección sagital (e). Azul: telencéfalo; amarillo: diencéfalo; verde: tectum óptico; aguamarina: mesencéfalo; rojo: cerebelo; morado: rombencéfalo. Escalas, 1mm. <u>Fuente</u>: (Kari D. *et al.*, 2022)

En contraposición con las anteriores mencionadas, existen otras publicaciones que han utilizado equipos más convencionales, adquiriendo imágenes de RM en múltiples planos (sagitales, transversales y dorsales), del encéfalo del dragón barbudo (*Pogona vitticeps*). Este enfoque se llevó a cabo utilizando un equipo de RM de 3T, lo cual proporciona resultados aplicables en un entorno clínico y ofrece imágenes que se ajustan más a las expectativas. En estas imágenes, se identificaron estructuras como el tálamo, nervio óptico, tectum óptico, ventrículos laterales, médula, telencéfalo, ventrículo tectal, cerebelo, el lóbulo y bulbos olfatorios del dragón barbudo (Figuras 85 y 86). Las secuencias comúnmente utilizadas para la evaluación del encéfalo incluyen secuencias ponderadas en T1W (pre y post-contraste), ponderadas en T2W, FLAIR y ponderadas en T2\* (STAR). Para este estudio en específico, se determinó que una sola secuencia, específicamente la secuencia turbo espín-eco (FAST-SE), ponderada en T2W, era adecuada para identificar las regiones anatómicas dentro del encéfalo del dragón barbudo con una alta resolución espacial y en un tiempo de estudio tolerable (Kari D. *et al.*, 2022).



**Figura 86.** Regiones de interés del dragón barbudo (*Pogona vitticeps*). A, B: Imágenes transversales a nivel del mesencéfalo medio (A), y tectum óptico (B). C, D: Imágenes dorsales a nivel del telencéfalo y tectum óptico (C) y la médula (D). (A) es una sección parasagital que muestra todas las nueve regiones de interés (ROI, por sus siglas en inglés). (B) representa una sección transversal a nivel del mesencéfalo medio, donde se pueden identificar el telencéfalo, los ventrículos laterales, el tálamo y el nervio óptico. En (B), se observan el tectum óptico, los ventrículos tectales y la médula. Las secuencias dorsales se muestran en (C, D). El pedúnculo olfatorio, telencéfalo, ventrículos laterales, tectum óptico, tálamo, tectum óptico, médula y cerebelo son visibles en (D). <u>Fuente</u>: (Kari D. *et al.*, 2022)



Figura 85. Plano parasagital del encéfalo de la pogona en vivo (A), solo encéfalo extraído (B), solo encéfalo con ROI (C). Fuente: (Kari D. *et al.*, 2022)

En cuanto a la influencia de la selección sexual en el desarrollo cerebral, se ha observado que los rasgos físicos distintivos, modelados por esta selección, tienden a favorecer características más grandes y elaboradas en machos. Sin embargo, estudios en vertebrados han dado resultados dispares sobre la influencia de la selección sexual en el desarrollo cerebral. Al abordar esta cuestión mediante imágenes de RM de alta resolución y métodos tradicionales de histología en lagartos dragón del género Ctenophorus, no se encontró relación entre el dimorfismo sexual y el volumen de regiones cerebrales de control. Este hallazgo respalda la idea de que los núcleos cerebrales fundamentales que regulan el comportamiento reproductivo pueden evolucionar heterogéneamente entre machos y hembras, posiblemente en respuesta a la selección sexual (Hoops *et al.*, 2017).

## Animales

Todos los animales utilizados en el desarrollo de esta Tesis Doctoral fueron examinados con el consentimiento previo de la institución responsable de los mismos.

## Tortuga boba (Caretta caretta)

Cinco ejemplares de hembras adultas de tortuga boba (*Caretta caretta*), cuyo peso oscilaba entre 62 y 106 kg, y cuya longitud de caparazón variaba entre 78 y 110cm, fueron recibidas del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de Tafira (CRFST). No se observaron hallazgos patológicos en el examen físico (Figura 87). A todos los ejemplares se le realizaron tres mediciones de la cabeza. Posteriormente, se calculó la media de estos valores: la media de longitud de la cabeza fue de 11.03  $\pm$  2.1cm, la media del ancho de la cabeza fue de 7.94  $\pm$  1.02cm, y la media de la altura de la cabeza fue de 5.29  $\pm$  0.7cm.



Figura 87. Tortuga boba (Caretta caretta). Cortesía de Pascual Calabuig.

## Iguana verde (Iguana iguana)

Cuatro cadáveres de iguanas verdes (*Iguana iguana*), machos adultos, fueron cedidos por el zoológico Parque Rancho Texas Lanzarote (Lanzarote, España) (Figura 88). Pesaron entre 3.8 y 4.1 kg, y su longitud desde la cavidad oral hasta el ano variaba entre 28 y 45cm. No se observaron patologías en el examen físico. Del mismo modo, se realizaron mediciones la media de la longitud de la cabeza fue de  $8.08 \pm 0.28$ cm, la media del ancho de la cabeza fue de  $6.83 \pm 0.09$ cm, y la media de la altura de la cabeza fue de  $4.89 \pm 0.07$ cm.



Figura 88. Ejemplar de iguana verde (Iguana iguana). Cortesía de Pascual Calabuig.

## Iguana rinoceronte (Cyclura cornuta cornuta)

Dos cadáveres de hembras de iguanas rinoceronte adultas (*Cyclura cornuta cornuta*) fueron proporcionados para este estudio por el zoológico "Rancho Texas Lanzarote Park" en las Islas Canarias, España. Estas iguanas (Figura 89), presentaban una longitud media que variaba entre 50 y 52cm, con un peso que oscilaba entre 4.2 y 5kg. Cabe destacar que los animales fallecieron por causas naturales, y durante el examen físico no se detectaron anomalías significativas. Además, se realizaron mediciones de la cabeza donde la media de la longitud de la cabeza fue de 5.40  $\pm$  0.17cm, la media del ancho de la cabeza fue de 3.42  $\pm$  0.10cm, y la media de la altura de la cabeza fue de 3.60  $\pm$  0.08cm.



Figura 89. Cadáver congelado de iguana rinoceronte (Cyclura cornuta cornuta).

## Secciones anatómicas

Las secciones anatómicas se llevaron a cabo en los individuos de iguana rinoceronte (Figura 89). Una vez realizados los exámenes de TC y RM, los cadáveres se colocaron en un soporte de aislamiento de plástico en decúbito ventral y se almacenaron sucesivamente en un congelador a -80 °C hasta que estuvieron completamente congelados. Posteriormente, las dos carcasas congeladas se seccionaron utilizando una sierra fija vertical de banda eléctrica *Scheppach* (Figura 91), para obtener secciones anatómicas macroscópicas secuenciales. Se obtuvieron cortes transversales contiguos de 1cm comenzando en la cavidad oral y extendiéndose caudalmente hasta la región de la primera vértebra cervical. Estas secciones fueron más gruesas que las de TC y RM para preservar la integridad y posición de las estructuras anatómicas. Los cortes se limpiaron con agua (Figura 92), se enumeraron y se fotografiaron en sus superficies craneal y caudal (Figura 90). Seguidamente, se seleccionaron aquellas secciones anatómicas que mejor coincidían con las imágenes de TC y RM para identificar las estructuras de la cabeza de la iguana rinoceronte. Para ayudar en este proceso, se utilizaron textos anatómicos y referencias relevantes que describen esta especie.



**Figura 90.** Cortes transversales macroscópicos utilizados para la identificación de estructuras de la cabeza de la iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), en progresión rostro-caudal: A) nivel del hueso nasal, B) región orbital, C) nivel encefálico, D) tronco encefálico.



**Figura 91.** Sección de los secciones anatómicas de la cabeza de la iguana rinoceronte en la sala de disección de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC.



Figura 92. Procesado de los cortes en la sala de disección de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC.

## Tomografía Computarizada

Se obtuvieron imágenes transversales de TC de todos los individuos que participaron en el trabajo, utilizando el escáner helicoidal de 16 cortes (Toshiba Astelion, Canon Medical System, Tokio, Japón), del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC (Figuras 93 y 95). Los reptiles se colocaron de manera simétrica en decúbito ventral en la camilla de la TC.

Se utilizó un protocolo clínico estándar (120 kVp, 80 mAs, matriz de adquisición de 512×512, FOV de 1809×858, un factor de avance en espiral (*pitch factor*), de 0.94 y una rotación de la campana de 1.5s), para obtener imágenes transversales secuenciales de TC con un grosor de 1mm.

Los datos transversales originales se registraron y transfirieron a la estación de trabajo del equipo. No se detectaron anomalías de atenuación o anatómicas en los cráneos de los reptiles utilizados en la investigación. Posteriormente, se aplicaron dos ventanas de TC ajustando los anchos de ventana (WW), y los niveles de ventana (WL), para apreciar los contrastes de las estructuras del cráneo: una configuración de ventana ósea (WW = 1500; WL = 300), y una configuración de ventana de tejido blando (WW = 350; WL = 40). Los datos originales se utilizaron para generar imágenes reconstruidas en múltiples planos (MPR), volumétricas (VR3D), y de máxima intensidad (MIP), seguidamente después de la edición manual para eliminar los tejidos blandos utilizando un visor Dicom 3D estándar (OsiriX MD, Ginebra, Suiza).



**Figura 93.** Ejemplar de tortuga boba (*Caretta caretta*), en el equipo Toshiba Astelion del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.



**Figura 94.** Ejemplar de iguana verde (*Iguana iguana*), previo al examen tomográfico. Cortesía del Dr. Francesco Grande, director técnico de Clínica Veterinaria Loro Parque y Loro Parque Fundación.



Figura 95. Ejemplar de iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), en el equipo Toshiba Astelion del Hospital Clínico Veterinario de la ULPGC.

## **Resonancia Magnética**

Se obtuvieron imágenes de RM con el equipo Canon Vantage Elan 1.5 T del Hospital Veterinario IVC Evidensia Los Tarahales (Gran Canaria, España) (Figura 96), utilizando secuencias en T1W en un plano transversal (TR: 634 ms, TE: 10, FOV: 1809 × 829, grosor 2mm, matriz 192 × 160), secuencias en T2W en un plano transversal (TR: 4769 ms, TE: 120, FOV: 1809 × 829, grosor 2mm, matriz 192 × 224), secuencias en T2W en un plano dorsal (TR: 5271 ms, TE: 120, FOV: 1809 × 829, grosor 2.5mm, matriz 240 × 192), secuencias en T2W en un plano sagital (TR: 4450 ms, TE: 120, FOV: 1809 × 829, grosor 2.9mm, matriz 224 × 224); se realizaron secuencias mejoradas espín-eco en los planos dorsal, transversal (Figura 97) y sagital. Las imágenes de RM se obtuvieron con un grosor de 2.7-3.5 mm. Posteriormente, en el proceso de selección de las imágenes se utilizó un visor Dicom 3D estándar (OsiriX MD, Ginebra, Suiza).



**Figura 96**. Ejemplar de iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*), en el equipo de RM del Hospital Veterinario IVC Evidensia Los Tarahales.



**Figura 97.** Estudio de RM en plano transversal de la iguana rinoceronte, con imagen en secuencia SE en T2W.

En este trabajo de Tesis Doctoral se pretende aportar datos que contribuyan al conocimiento anatómico de tres especies de reptiles incluidas en la Lista Roja de la UICN.

En una escala de menor a mayor riesgo poblacional, se encuentra la iguana común o iguana verde (*Iguana iguana*), bajo la clasificación de "*preocupación menor*" (Bock *et al.*, 2022), le sigue la tortuga boba (*Caretta caretta*), en situación de "*vulnerabilidad*" (Casale y Tucker, 2017), y por último, clasificada como "*en peligro de extinción*", la iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*) (Pasachnik y Carreras De León, 2019).

La **iguana verde** es un reptil originario de Centroamérica. En la actualidad, se considera una especie invasora en Canarias debido a la presencia de especies endémicas de alta fragilidad ecológica (REDEXOS). Si bien aún no se han registrado interacciones con la fauna autóctona, se considera importante realizar un seguimiento de su impacto en el ecosistema local (Lista de especies exóticas invasoras preocupantes para la región ultraperiférica de las islas Canarias: Reptiles.).

La **tortuga boba** presenta una distribución cosmopolita (Figura 98), aunque la zona de desove más destacada se encuentra en el archipiélago de Cabo Verde (Macaronesia), una de las colonias más importantes del mundo y la segunda más grande del Atlántico después de la de Florida (Usategui-Martín *et al.*, 2019). La región de la Macaronesia es un conjunto de archipiélagos atlánticos que incluye las islas Canarias, Madeira, Azores y Cabo Verde, que comparten similitudes geográficas y ecológicas. El carácter macaronésico de Canarias convierte a esta región en otro enclave importante que ha dado lugar a la implantación de un programa experimental para reestablecer la colonia de nidificación en la isla de Fuerteventura (Islas Canarias, España) (Liria-Loza, 2016).



**Figura 98.** Mapamundi de la distribución natural de la tortuga boba (*Caretta caretta*). <u>Fuente</u>: pangeanimal.com

Las Islas Canarias, ubicadas en el noroeste de África, conforman un archipiélago volcánico conocido por su gran biodiversidad. La singularidad geológica de estas islas ha influido en la evolución de especies adaptadas a sus condiciones específicas, tanto en tierra como en el océano circundante. La corriente de Canarias es una corriente oceánica que fluye en dirección sur-suroeste a lo largo de la costa noroeste de África, afectando directamente a las Islas Canarias. Esta corriente forma parte integral de las condiciones oceanográficas de la región, y desempeña un papel crucial en la distribución de nutrientes y vida marina. Su influencia contribuye a la riqueza biológica y la singularidad de los ecosistemas marinos en torno a las Islas Canarias. La zoogeografía marina de esta región destaca por la diversidad biológica única que alberga. Las especies marinas presentes en estas islas han evolucionado en un entorno particular, dando lugar a comunidades biológicas distintivas.

Sin embargo, el mar presenta unos desafíos a los que se enfrentan diariamente las tortugas. Los enredos en redes de pesca representan el principal problema con un 53%, seguido por la ingestión de anzuelos con un 10%, estimándose una tasa de mortalidad anual del 1.5% del total de la población entre los años 1998 y 2003 (Gráfico 2). En el transcurso de este siglo, se observa una tendencia general a la baja en el número de tortugas ingresadas en los centros de recuperación de las Islas Canarias (Gráfico 3) (Seguimiento de la tortuga boba, 2023).



**Gráfico 2.** Factores adversos que afectan a las tortugas. <u>Fuente</u>: (Seguimiento de la tortuga boba, 2023)



La **iguana rinoceronte** es un reptil propio de la isla de La Española, en el mar del Caribe. Aunque no es común encontrar ejemplares de la especie en el archipiélago canario, se han establecido programas de recuperación en las islas debido a la drástica disminución de su población causada por la actividad humana, catalogada como vulnerable por la UICN, y ocupando el más alto nivel de protección dentro de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), destinada a preservar especies en peligro(Pasachnik y Carreras De León, 2019).

# **CAPÍTULO 1**

#### Open Access Article



Anatomical Description of Loggerhead Turtle (*Caretta caretta*) and Green Iguana (*Iguana iguana*) Skull by Three-Dimensional Computed Tomography Reconstruction and Maximum Intensity Projection Images by (a) Jose Raduan Jaber Mohamad, (b) Eligia González-Rodríguez, (c) Alberto Arencibia, (c) Soraya Déniz, (c) Conrado Carrascosa and (c) Mario Encinoso Animals 2023, 13(4), 621; https://doi.org/10.3390/ani13040621 - 10 Feb 2023

Animals 2023, 13(4), 621; https://doi.org/10.3390/ani/3040621 - 10 Feb 2023 Cited by 2 | Viewed by 1942 Abstract The growing interest in reptiles has posed a challenge to veterinary clinicians due to the lack of a standardized system to perform anatomical studies similar to those used for dogs and cats. In this paper, we have attempted to describe, employing computed tomography [...] Read more. (This article belongs to the Special Issue Advances in Wildlife and Exotic Animals Anatomy)

La tortuga boba (*Caretta caretta*), un reptil de la familia Cheloniidae, se distribuye en diversas regiones del mundo y destaca por sus extensas migraciones a lo largo de áreas oceánicas. No obstante, la gestión inapropiada de su entorno, la contaminación marina y diversos impactos humanos, como la pesca accidental y el cambio climático, plantean amenazas significativas para su supervivencia. En paralelo, la iguana verde (Iguana iguana), perteneciente a la familia Iguanidae, enfrenta desafíos de conservación derivados de la pérdida de hábitat, la captura para el comercio de mascotas y otras actividades antropogénicas.

El desarrollo tecnológico en imágenes médicas ha mejorado la calidad de la visualización anatómica, facilitando diagnósticos más precisos y estudios anatómicos en medicina veterinaria. Con este trabajo se ha pretendido realizar una descripción detallada de los hallazgos anatómicos de cráneos de tortuga boba e iguana verde utilizando imágenes de TC en VR3D y MIP, permitiendo una visualización detallada de las estructuras anatómicas.

El objetivo principal del estudio se centra en la anatomía comparada del cráneo de ambas especies, utilizando datos de cinco tortugas y cuatro iguanas adultas escaneadas mediante TC. Se realizaron diversas mediciones craneales, como la longitud, ancho y altura de la cabeza (Figura 99). Se utilizaron ventanas de visualización específicas para apreciar la apariencia de las estructuras craneales.



**Figura 99.** Mediciones de la cabeza de la tortuga boba y la iguana verde. (A) Altura en una imagen lateral VR3D de la tortuga boba (5.54cm). (B,C) Largo (11.60cm) y ancho (7.90cm) en imágenes dorsales VR3D de la tortuga boba. (D) Altura (4.90cm) en una imagen lateral VR3D de la iguana verde. (E,F) Largo (8.36cm) y ancho (6.72cm) en imágenes dorsales VR3D de la iguana verde.

Se emplearon imágenes en VR3D y MIP para examinar y describir las estructuras óseas del dermatocráneo, neurocráneo y mandíbula en tortugas e iguanas. Se analizaron desde diferentes perspectivas (frontal, lateral, ventral, dorsal y caudal), y se compararon con la literatura disponible. El objetivo fue desarrollar un atlas comparativo de la osteología craneal de estas especies, facilitando la descripción detallada de la morfología y las relaciones de cada uno de los huesos de las especies bajo estudio. Para realizar esta descripción sistemática, se seleccionaron aquellas imágenes que se correspondían mejor entre sí, proporcionando información valiosa (Figuras 100-109). Asimismo, los huesos se organizaron en diferentes secciones y fueron descritos teniendo en cuenta la localización, morfología y relaciones interóseas consultando la bibliografía relevante.



**Figura 100.** Cráneo de *Caretta caretta*. (A) Vista rostral en VR3D. (B) Vista rostro-transversal en MIP. D: hueso dentario. EPt: hueso epipterigoides. F: hueso frontal. J: hueso yugal. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. Ns: senos nasales. O: órbita. Oc: cavidad oral. P: hueso parietal. Pa: hueso palatino. Po: hueso postorbitario. Prf: hueso prefrontal. Px: hueso premaxilar. San: hueso surangular. So: osificaciones escleróticas. Sol: surco olfatorio. V: vómer.



**Figura 101.** Cráneo de *Caretta caretta*. (A) Vista lateral en VR3D. (B) Vista medial en MIP. An: hueso angular. Art: hueso articular. Bo: hueso basioccipital. Co: hueso coronoides. Cv1: primera vértebra cervical. Cv2: segunda vértebra cervical. D: hueso dentario. EPt: hueso epipterigoides. F: hueso frontal. Ha: aparato hioideo. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. O: órbita. P: hueso parietal. Pa: hueso palatino. Part: hueso prearticular. Po: hueso postorbitario. Pro: hueso proótico. Prf: hueso prefrontal. Px: hueso premaxilar. Q: hueso cuadrado. QJ: hueso cuadratoyugal. Rp: rostrum parasfenoidal. San: hueso surangular. So: osificaciones escleróticas. Soc: hueso supraoccipital. Sp: hueso esfenoides. Spl: hueso esplenial. Sq: hueso escamoso. PIP: proceso inferior del parietal.



**Figura 102.** Cráneo de *Caretta caretta*. (A) Vista ventral en VR3D. (B) Vista ventral en MIP. BPt: basipterigoides. Bo: hueso basioccipital. Cv1: primera vértebra cervical. Cv2: segunda vértebra cervical. D: hueso dentario. Ha: aparato hioideo. J: hueso yugal. Mx: hueso maxilar. Op: hueso opistótico. Pa: hueso palatino. Pt: hueso pterigoides. PtP: proceso palatino del pterigoides. PtQ: proceso cuadrado del hueso pterigoides. Q: hueso cuadrado. QJ: hueso cuadratoyugal. Rp: rostrum parasfenoidal. Sp: hueso esfenoides. Sq: hueso escamoso. V: hueso vómer.



**Figura 103.** Cráneo de *Caretta caretta*. (A) Vista dorsal en VR3D. (B) Vista dorsal en MIP. Cv1: primera vértebra cervical. Cv2: segunda vértebra cervical. F: hueso frontal. Ha: aparato hioideo. J: hueso yugal. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. Ns: senos nasales. Op: hueso opistótico. P: hueso

parietal. Po: hueso postorbitales. Prf: hueso prefrontal. Px: hueso premaxilar. Pt: hueso pterigoides. Sc: cresta supraoccipital. So: osificaciones escleróticas. Soc: hueso supraoccipital. Sp: hueso esfenoides. Sq: hueso escamoso.



**Figura 104.** Cráneo de *Caretta caretta*. (A) Vista caudal en VR3D. (B) Vista caudal en MIP. PIP: proceso inferior del parietal. Art: hueso articular. Bo: hueso basioccipital. Coc: cóndilo del occipital. Ex: hueso exoccipital. Fm: foramen magno. Q: hueso cuadrado. QJ: hueso cuadratoyugal. San: hueso surangular. Sc: cresta supraoccipital. Soc: hueso supraoccipital. So: osificaciones escleróticas. Spl: hueso esplenial. Sq: hueso escamoso.



**Figura 105.** Cráneo de *Iguana iguana*. (A) Vista rostro-caudal en VR3D. (B) Vista rostro-caudal en MIP. Art: hueso articular. Co: hueso coronoides. D: hueso dentario. F: hueso frontal. J: hueso yugal. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. Ns: senos nasales. O: órbita. P: hueso parietal. Po: hueso postorbitario. Pfr: hueso postfrontal. Prf: hueso prefrontal. Px: hueso premaxilar. Pt: hueso pterigoides. Q: hueso cuadrado. San: hueso surangular.



**Figura 106.** Cráneo de *Iguana iguana*. (A) Vista lateral en VR3D. (B) Vista lateral en MIP. An: hueso angular. Art: hueso articular. Bo: hueso basioccipital. Cp: proceso cultriforme. Co: hueso coronoides. Cv1: primera vértebra cervical. Cv2: segunda vértebra cervical. Ec: hueso ectopterigoides. Ept: hueso pterigoides. F: hueso frontal. HA: aparato hioideo. J: hueso yugal. L: hueso lacrimal. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. P: hueso parietal. Part: hueso prearticular. Po: hueso postorbitario. Pfr: hueso postfrontal. Pro: hueso proótico. Pmx: hueso premaxilar. Prf: hueso prefrontal. Q: hueso cuadrado. San: hueso surangular. So: osificaciones escleróticas. Sp: hueso esfenoides. Sq: hueso escamoso. St: hueso supratemporal. Pt: hueso pterigoides. SOF: fenestra suborbital.



**Figura 107.** Cráneo de *Iguana iguana*. (A) Vista ventral en VR3D. (B) Vista ventral en MIP. (C) Vista ventral en VR3D retirando el aparato hioideo. AP: proceso alar del esfenoides. Art: hueso articular. Bpt: proceso basipterigoideo. Bo: hueso basioccipital. Cp: proceso cultriforme. D: hueso dentario. Ec: hueso ectopterigoides. HA: aparato hioideo. ITF: fenestra infratemporal. Pa: hueso palatino. Pt: hueso pterigoides. PtP: proceso palatino del pterigoides. PtQ: proceso cuadrado del pterigoides. Sp: hueso esfenoides. Spl: hueso esplenial. V: hueso vómer.



**Figura 108.** Cráneo de *Iguana iguana.* (A) Vista dorsal en VR3D. (B) Vista dorsal en MIP. Art: hueso articular. F: hueso frontal. ITF: fenestra infratemporal. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. P: hueso parietal. Pfr: hueso postfrontal. Pmx: hueso premaxilar. Po: hueso postorbitario. Ppo: proceso paroccipital. Prf: hueso prefrontal. Pt: hueso pterigoides. Q: hueso cuadrado. SOF: fenestra suborbital. Soc: hueso supraoccipital. Sq: hueso escamoso. V: hueso vómer.



**Figura 109.** Cráneo de *Iguana iguana*. (A) Vista caudal en VR3D retirando el aparato hioideo. (B) Vista caudal en MIP. Art: hueso articular. Bt: tubérculo basal. Bo: hueso basioccipital. Ex: hueso exoccipital. Fm: foramen magno. HA: aparato hioideo. Ot: hueso otooccipital. P: hueso parietal. Po: hueso postorbital. Ppo: proceso paroccipital. Pt: hueso pterigoides. Q: hueso cuadrado. San: hueso surangular. Sc: cresta supraoccipital. Soc: hueso supraoccipital. Spl: hueso esplenial. Sq: hueso escamoso.

#### Dermatocráneo

#### - Hueso Nasal (Os Nasale)

Los huesos nasales en la tortuga se observan como pequeñas estructuras óseas que forman el techo de la fosa nasal y el margen dorsal de la *apertura narium externa*. El hueso nasal en la tortuga se encuentra con el prefrontal caudalmente y el maxilar lateralmente (Figura 100A). En la iguana, los nasales son más anchos, de superficie lisa y ligeramente convexos dorsalmente, aunque van disminuyendo rostralmente hasta contactar con el premaxilar. Lateralmente, contactan con el maxilar, y caudalmente con el prefrontal y frontal (Figuras 105, 106 y 108).

#### - Huesos Prefrontal y Frontal (Os Prefrontale, Os Frontale)

En estas especies, el hueso frontal tiene una forma plana y se localiza en la parte anterior del cráneo (Figuras 100, 102, 103, 105, 106 y 108). Las reconstrucciones en VR3D y MIP rostrales de la tortuga muestran que ambos frontales contactan en la línea media, así como la relación con los prefrontales rostralmente (Figura 100A), los parietales caudalmente (Figura 100), y cómo el hueso frontal queda excluido de la órbita (Figura 100A). En la imagen MIP rostral (Figura 100B), se observa que desde la superficie ventral del frontal parten unas cresta parasagitales formando un túnel óseo parcial, el surco olfatorio. Las imágenes VR3D y MIP de la iguana verde muestran que el hueso prefrontal contacta rostro-medialmente con el hueso frontal (Figuras 105, 106 y 108). El hueso frontal en la iguana es amplio y forma una parte importante del techo del cráneo, contribuyendo al borde dorsal de la órbita. Se encuentra con el hueso prefrontal rostro-lateralmente, el hueso postfrontal caudo-lateralmente y el hueso parietal caudalmente.

#### - Hueso Postfrontal-Postorbitario (Processus Postfrontalis-Postorbitalis)

El hueso postorbital forma parte del arco temporal y la mayoría del margen posterior de la órbita tanto en la tortuga como en la iguana. Este hueso en la tortuga se conecta dorso-caudalmente con el hueso parietal, antero-dorsalmente con el hueso prefrontal, caudalmente con el escamoso, medialmente con el frontal y ventralmente con el hueso yugal excluyendo así al hueso frontal de la órbita (Figuras 100A, 101A y 103). En la iguana, estos huesos son anchos y se pueden identificar en imágenes VR3D y MIP

rostrales, dorsales y laterales como dos huesos diferentes (Figuras 105, 106 y 108). El hueso postfrontal surge en la parte caudo-dorsal de la órbita y se encuentra medialmente con el hueso frontal, caudalmente con el hueso parietal y lateralmente con el hueso postorbital. En cambio, el hueso postorbital se encuentra con el hueso postfrontal medialmente, con el hueso escamoso caudalmente y con el hueso yugal rostro-lateralmente.

#### - Hueso Parietal (Os Parietale)

El hueso parietal en la tortuga es ancho y relativamente plano. Se trata del componente más grande del techo del cráneo (Figura 103A) y está formado por una placa dorsal horizontal que comprende parte del techo temporal del cráneo y una placa ventral vertical (proceso inferior parietal) para-sagitalmente (Figuras 100, 101, 103 y 104). Además, este hueso separa la cavidad craneal (*cavum cranii*) de la fosa temporal (*fossa temporalis*) observado en la vista VR3D caudal. Se conecta rostro-lateralmente con el hueso postorbital (Figuras 100, 101B y 103), rostro-medialmente con el hueso frontal (Figuras 100, 101B y 103), caudalmente con el hueso supraoccipital y caudo-lateralmente con el hueso escamoso (Figuras 101B y 103A). En contraposición, el hueso parietal en la iguana es un hueso corto y en forma de placa con una porción descendente que forma parte de la fosa temporal (Figuras 105, 106 y 108), pudiendo ser observado en las imágenes MIP y VR3D. Este hueso se encuentra rostro-lateralmente con el hueso postfrontal (Figuras 105, 106 y 108), lateralmente con los huesos escamoso y supratemporal (Figura 106), y caudo-medialmente con el hueso supraoccipital (Figuras 108 y 109).

#### - Hueso Yugal (Os Jugale)

El hueso yugal es uno de los principales elementos del arco cigomático bajo la órbita en ambas especies, mostrando una configuración en forma de "L" en las imágenes laterales VR3D y MIP. Las imágenes VR3D rostrales y laterales de la tortuga y de la iguana fueron útiles para distinguir la disposición de este hueso en el borde caudo-ventral de la órbita. Las imágenes VR3Dy MIP rostrales, laterales y ventrales de la tortuga mostraron una morfología robusta y las relaciones de este hueso dorso-caudalmente con el hueso postorbital, rostralmente con el maxilar y posteriormente con el hueso cuadratoyugal.

En cambio, el hueso yugal en la iguana se observó una morfología más estilizada en el hueso yugal, proyectándose dorsalmente a lo largo del borde infraorbitario, hasta contactar con los huesos postorbital y escamoso. Esta conformación se pudo apreciar en las imágenes VR3D y MIP en vistas rostrales, laterales y dorsales (Figuras 105, 106 y 108). Rostralmente contacta con los huesos lacrimal y maxilar. Ventralmente, contacta con el hueso ectopterigoides.

#### - Hueso Cuadratoyugal (Os Quadratojugale)

El hueso cuadratojugal solo fue observado en la cabeza de la tortuga, en la imagen VR3D lateral, formando parte del borde antero-ventral del *cavum tympani* y la mitad de la emarginación de la mejilla. Se une al hueso yugal anteriormente, al hueso postorbital antero-dorsalmente, al hueso escamoso caudo-dorsalmente y al hueso cuadrado caudalmente (Figura 101A).

#### - Hueso Escamoso (Os Squamosum)

El hueso escamoso se encuentra caudo-dorsalmente sobre el cuadrado y el cuadratoyugal, y ambos forman parte del *antrum postoticum*, donde el hueso cuadrado comprende la base y el escamoso el techo en estas especies. Este hueso, en la tortuga, está unido a la porción caudal del hueso cuadrado (Figura 101A), contacta dorsalmente con el hueso parietal (Figura 103A), caudo-medialmente con el proceso parooccipital del hueso opistótico (Figura 104), rostro-lateralmente con el cuadratoyugal (Figura 101A) y ventralmente con el hueso basioccipital (Figura 101). En la iguana, el hueso escamoso es un hueso tirradiado localizado sobre la superficie lateral de la cápsula ótica y que comparte la misma configuración que en la tortuga. Fue observado en las imágenes VR3D y MIP en imágenes laterales (Figura 106), dorsales (Figura 108) y caudales (Figura 109). Un proceso rostral se une al hueso postorbital y al yugal, el proceso posterior contacta con los huesos parietal y supratemporal. Finalmente, el proceso ventral encaja en el borde dorsal del cuadrado.

#### - Hueso Premaxilar (Os Premaxillare)

Los huesos premaxilares son las estructuras óseas más rostrales y muestran una forma de V en ambas especies. En la tortuga contactan caudo-ventralmente con el extremo

anterior del vómer (Figura 102). La imagen VR3D rostral mostró la presencia de procesos dorso-mediales en estos huesos, permitiendo la unión de las narinas en la línea media (Figura 100A). En la iguana, presenta una configuración similar, contactando con el hueso nasal dorsalmente, el maxilar caudo-lateralmente y el vómer caudo-medialmente (Figuras 105, 106, 108). Se observó adicionalmente una placa alveolar portadora de dientes homodontos (Figura 106)

#### - Hueso Maxilar (Os Maxillare)

El hueso maxilar se ubica a lo largo del borde lateral de los huesos vómer y palatinos, rodeando el borde ventral de la órbita ocular (Figuras 100, 101, 105 y 106). En las imágenes MIP rostrales y laterales de la tortuga boba, este hueso contacta con el hueso premaxilar rostro-medialmente, con el vómer y los huesos palatinos ventro-medialmente, y caudalmente con el hueso yugal a lo largo del borde ventral (Figuras 99 y 101A). Respecto a la iguana, este hueso surge lateral y ventral al hueso nasal, y contacta rostralmente con el premaxilar, dorsalmente con el hueso lagrimal y nasal, y caudo-lateralmente con el hueso yugal.

#### Hueso Vómer

El vómer es un hueso laminar dividido en porciones dorsal y ventral. Esta última es aproximadamente rectangular y puede distinguirse en reconstrucciones ventrales de VR3D y MIP de ambas especies. Se encuentra en la región palatal rostro-medial. En la tortuga, este hueso se conecta rostralmente con el premaxilar y el maxilar, lateralmente con el palatino, y caudalmente con el pterigoideo (Figura 102). En la iguana, el vómer presenta forma triangular y se articula rostro-lateralmente con el maxilar, con los huesos palatinos caudalmente, y medialmente con el contralateral, mostrando poco o ningún contacto con el premaxilar y ninguno con el hueso pterigoideo (Figura 107).

### - Hueso Palatino (Os Palatinum)

El hueso palatino es un hueso laminar situado entre los huesos vómer (rostral) y pterigoides (caudal). Muestra una forma cóncava ventral que se estrecha posteriormente, contactando lateralmente con el hueso yugal y medialmente con el

hueso pterigoideo. Tanto la tortuga boba como la iguana verde mostraron la misma configuración, visible en las imágenes VR3D y MIP ventrales (Figuras 101B, 102 y 107).

#### - Hueso Pterigoides (Os Pterygoideum) y Epipterigoides

El pterigoides es un hueso plano localizado entre los huesos vómer y palatinos (rostral), y el hueso basiesfenoides (caudal) en la tortuga boba, llegando a contactar con el hueso cuadrado caudalmente por el proceso cuadrado del pterigoides (Figuras 101B y 102). Curiosamente, este hueso se observa fusionado en la tortuga, pero en la iguana se encuentra completamente separado (Figura 107B,C). Esta conformación solo fue observable en la vista ventral al eliminar informáticamente el aparato hioideo (Figura 107C). Además, se pudo observar el hueso ectopterigoides, que lateralmente contacta con los huesos yugal y maxilar (Figura 106).

El epipterigoides en ambas especies es un hueso columnar delgado. Ventralmente, su encaja en la superficie dorsal del pterigoides. Dorsalmente, contacta con el margen anterior del proótico y el parietal (Figuras 100B, 101B y 106).

#### - Hueso Cuadrado (Os Quadratum)

El cuadrado forma parte de la articulación cráneo-mandibular, formando la fosa temporal en ambas especies. El hueso cuadrado de la tortuga contacta dorsalmente con el hueso escamoso (Figuras 101 y 102), rostralmente con el pterigoides mediante el proceso cuadrado del pterigoides (Figura 102A), y lateralmente con el hueso cuadratoyugal (Figura 101A). En la iguana, este hueso contacta dorsalmente con el supratemporal y el borde caudal del hueso escamoso (Figuras 106 y 108). Ventralmente, alcanza el hueso articular con el que forma la articulación cráneo-mandibular (Figura 106). El hueso cuadrado en la iguana se encuentra dividido en dos partes, medial y lateral. El pilar central sostiene los cóndilos dorsal y ventral. El cóndilo dorsal (cefálico), es grande y redondeado. Contacta con los huesos supratemporal y escamoso, y el proceso paroccipital. El cóndilo ventral (mandibular) se observa dividido en partes medial y lateral, siendo la parte medial ligeramente más grande y contactan con el hueso articular (Figura 106). La porción medial del cuadrado presenta una pequeña superficie articular ventral para el hueso pterigoides (Figura 107).
#### Neurocráneo

#### Hueso Esfenoides (Os Sphenoidale)

El esfenoides está constituido por la unión del basiesfenoides y el paraesfenoides. Presenta una morfología aproximadamente trapecial ubicado entre el pterigoides (rostral) y el basioccipital (caudal), en ambas especies, formando parte de la superficie ventral del cráneo (Figuras 102, 103B, 104, 106 y 107). El esfenoides en la iguana es corto y ancho, con un borde posterior curvado. Presenta dos procesos rostrales denominados basipterigoideos, cortos y gruesos, entre los que se encuentra el rostrum parasfenoidal (*processus cultriformis*).

#### - Hueso Basioccipital (Os Basioccipitale)

El hueso basioccipital en la tortuga es un hueso de forma rectangular ubicado en la mitad posterior del *planum basale*, en contacto con el basisfenoides (rostralmente), los huesos exoccipitales (caudalmente), y opistóticos (lateralmente) formando el suelo de la cavidad craneana caudal (Figuras 101B, 102 y 104). El basioccipital en la iguana es corto y ancho, con un borde anterior curvo que contacta con el esfenoides, un cóndilo posterior estrecho y alas laterales. La superficie dorsal contacta con los proóticos y posterolateralmente con los exoccipitales. La superficie ventral es lisa, excepto por tubérculos basales (Figuras 106,107 y 109).

#### - Hueso Supraoccipital (Os Supraoccipitale)

El hueso supraoccipital es una estructura ósea impar en la línea media ubicada en la porción caudo-dorsal del cráneo (Figuras 101-104, 108 y 109). Tanto las tortugas como las iguanas, este hueso presenta una configuración similar, con un amplio contacto con los márgenes caudales de los parietales (Figuras 101B, 103A, 108 y 109). Caudo-ventralmente, contacta con el opistótico y otooccipital, formando parte de la parte medial del cóndilo occipital, cerca del agujero magno. Estas características fueron observadas mediante reconstrucciones VR3D y MIP en las vistas caudales caudal de ambas especies (Figuras 104 y 109).

#### - Hueso Exoccipital (Os Exoccipitale)

Este hueso se encuentra lateral al agujero magno y comprende parte del cóndilo occipital. Dorsalmente está en contacto con el otoccipital y ventro-medialmente con el hueso basioccipital en ambas especies estudiadas, y se extiende ventralmente hasta el aspecto dorso-lateral de los cóndilos occipitales (Figuras 104 y 109).

#### - Hueso Proótico (Os Prooticum)

El proótico representa aproximadamente un tercio de la cápsula ótica en tortugas e iguanas. Engloba la cavidad coclear, el canal semicircular anterior y parte del canal semicircular horizontal. La superficie rostro-dorso-medial tiene un contacto parasagital con el proceso inferior del parietal en la tortuga (Figuras 101B y 104A). La superficie lateral contribuye al techo y la pared lateral de la cavidad timpánica, adyacente al hueso cuadrado en ambas especies. Ventralmente contacta con el esfenoides, caudalmente se superpone al proceso paroccipital del otooccipital tanto en tortugas como iguanas (Figuras 101 y 106B).

#### - Hueso Opistótico (Os Opisthoticum)

El opistótico se encuentra en la porción posterior de la cápsula ótica en ambas especies. En la tortuga contacta con el proótico rostralmente, con el supraoccipital dorsalmente, con el exoccipital posteromedialmente, con el cuadrado rostro-lateralmente y el escamoso caudo-lateralmente (Figuras 102 y 103). El opistótico en la iguana se diferencian una región ótica y una paroccipital. La región ótica contiene una cavidad central, bordeada por facetas que contactan con el supraoccipital y el proótico (Figura 109). La región paroccipital se extiende lateralmente y tiene un proceso (proceso paroccipital) que se articula con el cuadrado, el escamoso y el supratemporal (Figuras 108 y 109).

#### - Hueso Otooccipital

Solo fue observado en los cráneos de iguana. Se trata de un hueso formado por la fusión del opistótico y del exoccipital. El otooccipital forma la parte posterior del neurocráneo y el margen lateral del foramen magnum. Además participa en la articulación del cráneo y la columna (Figuras 108 y 109).

#### Mandíbula

En ambas especies, la mandíbula es muy robusta y muestra dos piezas que están fusionadas cranealmente en la sínfisis intermandibular.

#### - Hueso Dentario (Os Dentale)

Es el hueso principal de la mandíbula en ambas especies. Su superficie lateral se observa perforada por pequeños forámenes, donde corren las ramas del nervio mandibular y los vasos sanguíneos. En la iguana, presenta dientes pleurodontos. Tanto en la tortuga o en la iguana, contacta con el coronoides y el surangular caudo-dorsalmente (Figuras 100-102, 106 y 107), con el angular caudo-ventralmente (Figuras 101, 102, 106 y 107) y con el hueso esplenial medialmente.

#### - Hueso Angular (Os Angulare)

Es un hueso laminar ubicado en la porción caudal de la mandíbula desde el aspecto rostro-medial hasta el aspecto caudo-lateral, formando el margen ventro-caudal. Este hueso se visualizó bien en las imágenes MIP y VR3D laterales de estas especies (Figuras 101 y 106). Las conexiones del hueso angular en ambas especies son el hueso dentario rostralmente, los huesos esplenial y prearticular dorso-medialmente y el hueso articular en dirección caudal.

#### - Hueso Surangular (Os Surangulare)

Es un hueso plano ubicado ventral al coronoides a lo largo del borde dorsal de la mandíbula y forma la mayor parte de la superficie caudo-lateral de la mandíbula. En ambas especies, está ubicado posteriormente y ligeramente dorsal al dentario, conectado al coronoides rostro-dorsalmente, al hueso angular caudo-ventralmente y al hueso articular medialmente (Figuras 101 y 106).

### - Hueso Coronoides (Os Coronoideum)

El coronoides es una estructura ósea ampliamente triangular ubicada aproximadamente en el aspecto caudo-dorsal de cada rama de la mandíbula. Ambas especies tienen la misma configuración donde el coronoides se encuentra con el dentario rostro-

lateralmente, el surangular caudo-lateralmente, el articular caudo-ventro-medialmente y el hueso esplenial ventro-medialmente (Figuras 101B, 105 y 106).

#### - Hueso Prearticular (Os Prearticulare)

El hueso prearticular es una lámina ancha y plana que cubre una gran área de la superficie caudo-medial de la mandíbula inferior, formando un proceso largo y estrecho cuyo borde dorsal constituye el borde medial de la fosa aductora. Este hueso llega al coronoides rostro-dorsalmente, al hueso articular caudo-medialmente y al angular ventralmente (Figura 101). Si el hueso esplenial está presente, este hueso se sutura al borde rostral del hueso prearticular.

#### - Hueso Articular (Os Articulare)

Es un hueso irregularmente en forma de bloque que se encuentra en el borde caudal de la mandíbula en la tortuga y la iguana. Se observó utilizando técnicas VR3D y MIP (Figuras 101 y 104-109) y tuvo la misma configuración en ambas especies. Así, se une al surangular lateralmente y al angular ventralmente, formando el proceso retroarticular, y dorsalmente con el hueso coronoides.

#### - Hueso Esplenial (Os Spleniale)

En la tortuga y en la iguana, el hueso esplenial es plano y de morfología aproximadamente triangular, localizado rostralmente al hueso prearticular, en la superficie medial de la mandíbula. En ambas especies, se encuentra delimitado rostrodorsalmente por el coronoides, caudalmente por el prearticular, caudo-ventralmente por el angular y rostro-ventralmente por el dentario (Figuras 101B, 104A, 107 y 109).

#### - Aparato Hioideo (Apparatus Hyobranchialis)

El aparato hioideo se encuentra en el espacio intermandibular. Aporta soporte a la lengua, la faringe, así como al suelo de la boca. Este aparato consta de una pieza aproximadamente pentagonal, que tiene tres estructuras: una estructura central (basihioides), un proceso anterior (proceso entogloso) y dos procesos caudo-laterales (primer y segundo ceratohioides) (Figuras 101A, 102, 103, 104A, 106, 107, 108A y 109).

Los resultados de esta investigación demostraron que las imágenes obtenidas por TC y post-procesadas en VR3D y MIP de los cráneos de la tortuga y la iguana proporcionaron información adecuada para una descripción detallada de los diferentes huesos que componen el cráneo. Al igual que en otros reptiles, los cráneos de las especies bajo estudio son estructuras altamente complejas compuestas por diferentes huesos que presentan diferencias significativas, que fueron observadas en las imágenes reconstruidas. En comparación con otros estudios realizados en reptiles (iguana verde, tegu común y dragón barbudo) en los que se utilizó radiografía convencional para el estudio del cráneo, la adquisición de imágenes de TC reconstruidas redujo significativamente la superposición de las estructuras bilaterales, proporcionando una mejor visualización de la configuración de los huesos que componen el cráneo las especies bajo estudio (Banzato et al., 2011). La técnica MIP se destaca como una herramienta altamente versátil que crea imágenes bidimensionales potenciando la visualización de estructuras anatómicas óseas o de alta atenuación. La técnica VR3D es otra herramienta que convierte datos de TC bidimensionales transversales en un modelo tridimensional de alta fidelidad. La principal ventaja de esta técnica es su capacidad para facilitar la visualización tridimensional, eliminando la superposición de estructuras circundantes. Esto permitió la identificación de características morfológicas específicas de cada especie. Algunas de estas características incluyeron la notable amplitud de la región posterior del cráneo en la tortuga en comparación con la iguana, la presencia o ausencia de huesos particulares como el cuadratoyugal (ausente en la iguana) o el lacrimal (ausente en la tortuga) (Evans, 2008), así como las diferencias y similitudes en huesos comunes a ambas especies. Estas incluyeron la conformación convexa de la bóveda craneal en la iguana, en contraste con la morfología más aplanada en la tortuga; la diferencia en el grado de desarrollo del aparato hioideo, considerablemente mayor en la iguana; o la separación entre los huesos pterigoideos en la iguana frente a la fusión observada en la tortuga. Con respecto al hueso pterigoideo, algunos autores han informado de un grado de osificación dependiente de la edad del hueso pterigoides, especialmente en la unión con el hueso epipterigoides, tendiendo a fusionarse con la edad (Werneburg y Maier, 2019), que fue observado en nuestro estudio utilizando ambas técnicas de reconstrucción (VR3D y MIP).

Además, se observaron rasgos como una mandíbula robusta con sínfisis fusionada en la tortuga boba, lo que concuerda con otros estudios que sugieren una correlación con una mayor capacidad de mordida. También se apreció que el hueso frontal quedaba excluido por el prefrontal del borde de la órbita, lo cual contrasta con lo reportado en otras especies de tortugas marinas, como la tortuga lora (Lepidochelys kempii) (Jones et al., 2012). Se pudo observar que del hueso frontal en la tortuga boba parten dos procesos ventrales formando un túnel óseo parcial. Esta conformación ha sido descrita en la bibliografía y se denomina sulcus olfactorius, por donde transcurren los pendículos olfatorios extendiéndose rostralmente hacia la cavidad nasal (Evers et al., 2020; Arencibia et al., 2021). En estudios anatómicos de otras iguanas se ha reportado que la iguana marina de Galápagos (Amblyrhynchus cristatus), exhibe una morfología craneal similar a la observada en la iguana verde, ambas caracterizadas por un cráneo corto y convexo, observándose la verticalización proceso nasal del premaxilar (Paparella and Caldwell, 2022). Otras estructuras identificadas en las imágenes MIP y VR3D fueron las osificaciones escleróticas, que han sido objeto de estudio de varias investigaciones como un posible marcador de crecimiento, si bien no representan una alternativa para la esqueletocronología en la tortuga boba, aunque se reporta que podrían ser útiles en otras especies de tortugas marinas (De Queiroz, 1982; Avens *et al.*, 2009).

En resumen, la combinación de ambas técnicas de reconstrucción por TC resultaron beneficiosas al proporcionar referencias anatómicas detalladas de las estructuras óseas que conforman las cabezas de estas especies. Los resultados de este estudio pueden ser aplicados para evaluar diversos procesos, como lesiones traumáticas que involucren fracturas craneales, con potencial daño cerebral, así como malformaciones craneales y osteodistrofia relacionada con desequilibrios nutricionales o neoplasias. Además, estas técnicas de reconstrucción pueden ser utilizadas como herramientas pedagógicas para la enseñanza de la anatomía veterinaria, ya que permiten una visualización global y realista de las estructuras anatómicas. Al evitar la superposición y eliminar la necesidad de material de disección, facilitan el estudio y comprensión de los estudiantes.

# **CAPÍTULO 2**

#### Open Access Article



Anatomical Description of Rhinoceros Iguana (*Cyclura cornuta cornuta*) Head by Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging and Gross-Sections by & Eligia González Rodríguez, & Mario Encinoso Quintana, & Daniel Morales Bordon, & José Guerra Garcés, Himar Artiles Nuez and & José Raduan Jaber Animals 2023, 13(6), 955; https://doi.org/10.3390/ani13060955 - 07 Mar 2023 Viewed by 742 Abstract In this paper, we attempted to elaborate on an atlas of the head of the rhinoceros iguana, applying modern imaging

÷

Abstract in this paper, we attempted to elaborate on an atlas of the head of the rhinoceros iguana, applying modern imaging techniques such as CT and MRI. Furthermore, by combining the images acquired through these techniques with macroscopic anatomical sections, we obtained an adequate [...] Read more. (This article belongs to the Special Issue Advances in Wildlife and Exotic Animals Anatomy)

La iguana rinoceronte (Cyclura cornuta cornuta), perteneciente a la familia Iguanidae, es una especie endémica de la isla de La Española, en el mar Caribe. La alteración del hábitat debido a actividades humanas, la caza y la pérdida de bosques han llevado a la migración e incluso la extinción de esta especie en algunas regiones. La complejidad anatómica compartida entre mamíferos y reptiles, junto con el creciente interés en los reptiles como mascotas y los esfuerzos de conservación, plantea desafíos en la interpretación de estudios de imágenes veterinarias. Los avances tecnológicos en técnicas de diagnóstico por imagen, han revolucionado la práctica clínica veterinaria, proporcionando información sobre las estructuras internas de los cuerpos animales de manera no invasiva y rápida. El objetivo principal de este artículo se centró en el estudio mediante TC y RM, así como mediante secciones anatómicas, del cráneo de la iguana rinoceronte, actualmente en peligro crítico de extinción. Los resultados no solo contribuyen al entendimiento de la anatomía específica de la especie, sino que también ofrecen una herramienta valiosa para el diagnóstico y evaluación clínica de posibles patologías que afecten a esta región. Este estudio representa el primer análisis anatómico de la especie utilizando estas técnicas avanzadas de imagen y secciones anatómicas. Para ello, dos cadáveres de iguana rinoceronte procedentes del centro Rancho Texas Lanzarote (España), fueron escaneados por TC y RM, y posteriormente seccionados para su evaluación. Se seleccionaron las imágenes y se agruparon según el nivel de corte.

La Figura 110 corresponde a un plano sagital de TC en ventana tejido blando, en la cual cada línea y número (I–V) representa aproximadamente el nivel de las secciones anatómicas, de TC y de RM (Figuras 111–115).



**Figura 110.** Imagen sagital de TC en ventana tejido blando de la cabeza de la iguana rinoceronte, representando los niveles de corte utilizados en este estudio. Los segmentos I-V corresponden a las Figuras 111-115.

Las Figuras 111–115 están compuestas por tres imágenes: (A) secciones anatómicas, (B) TC en plano transversal en ventana hueso y (C) RM en plano transversal en T1W (Figura 111C) y T2W (Figuras 112C-115C). Las imágenes se presentan en una progresión rostrocaudal desde el hueso maxilar (Figura 111) hasta el tronco encefálico (Figura 115). Las Figuras 116 y 117 están compuestas por dos imágenes: (A) TC en ventana hueso y (B) RM en T2W, en planos dorsal y sagital, respectivamente. La Figura 118 es una imagen sagital de secuencia T2W que muestra la angulación con respecto al eje horizontal del mielencéfalo (40°).



**Figura 111.** Imágenes de sección anatómica (A), plano transversal de TC en ventana hueso (B) y plano transversal de RM en T1W (C) de la cabeza de la iguana rinoceronte a nivel de la cavidad nasal. Ca: diente. D: hueso dentario. Eg: proceso entogloso del basihioides. Ict: conducto coanal interno. M1: músculos genihioideo + hiogloso + intermandibular. Mf: fosa meckeliana. Mh: cuerno medial. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. Ng: glándula nasal. Sn: septo nasal. Sr: receso subconchal. St: Stammteil. Tg: lengua. V: hueso vómer.



**Figura 112.** Imágenes de sección anatómica (A), plano transversal de TC en ventana hueso (B) y plano transversal de RM en T2W (C) de la cabeza de la iguana rinoceronte a nivel de las órbitas. Ac: cámara anterior. Ct: tubérculo corniculado. D: hueso dentario. F: hueso frontal. Ha: aparato hioideo. Hv: humor vítreo. I: iris. L: cristalino. Lx: laringe. M1: músculos genihioideo + hiogloso + intermandibular. Mf: fosa meckeliana. Mx: hueso maxilar. Ob: bulbo olfatorio. O: cavidad oral. Os: seno orbitario. Pa: hueso palatino. Pfr-Po: hueso postfrontal-postorbitario. Sc: esclera. Si: septo interorbitario. So: osificaciones escleróticas. T: tráquea. Th: cartílago tiroideo. Vs: espinas ventrales.



**Figura 113.** Imágenes de sección anatómica (A), plano transversal de TC en ventana hueso (B) y plano transversal de RM en T2W (C) de la cabeza de la iguana rinoceronte en la región postorbital. An: hueso angular. Co: coronoides. DPR: parte rostral del palium dorsal. E: globo ocular. FL: fisura lingitudinal del cerebro. Ha: aparato hioideo. J: hueso yugal. Lv: ventrículo lateral. M2: Musculus intermandibularis + Musculus genioyhoideus + Musculus hyoglossus + Musculus pterygoideus + Musculus omohyoideus + Musculus sternohyoideus + Musculus ceratohyoideus. M3: Musculus adductor mandibulae externus medialis. M4: Musculus adductor mandibulae externus superficialis. Mx: hueso maxilar. Nf: nasofaringe. O: cavidad oral. P: hueso parietal. Pa: hueso palatino. Pfr-Po: huesos postfrontal-postorbitario. Pt: hueso pterigoides. Sof: fenestra suborbital. T: tráquea. Tha: tálamo. TL: telencéfalo.



**Figura 114.** Imágenes de sección anatómica (A), plano transversal de TC en ventana hueso (B) y plano transversal de RM en T2W (C) de la cabeza de la iguana rinoceronte a nivel del tálamo. ADVR: cresta ventricular anterodorsal. DCx: corteza dorsal. EPt: hueso epipterigoides. FL: fisura longitudinal del cerebro. Ha: aparato hioideo. M3: *Musculus adductor mandibulae externus medialis*. M4: *Musculus adductor mandibulae externus medialis*. M4: *Musculus adductor mandibulae externus pars superficialis*. O: cavidad oral. P: hueso parietal. Part: hueso prearticular. Pt: hueso pterigoides. PtQ: proceso cuadrado del hueso pterigoides. Pfr-Po: hueso postfrontal-postorbitario. S: septo. Sp: hueso esfenoides. Sq: hueso escamoso. T: tráquea. Tha: tálamo. TL: telencéfalo.



**Figura 115.** Imágenes de sección anatómica (A), plano transversal de TC en ventana hueso (B) y plano transversal de RM en T2W (C) de la cabeza de la iguana rinoceronte en la región occipital. Art: hueso articular. Bo: hueso basioccipital. BPt: proceso basipterigoideo. Bs: tronco del encéfalo. C: cerebelo. cc: colículos caudales. Ha: aparato hioideo. IV: cuarto ventrículo. Oc: cavidad ótica. Oe: esófago. Ot: hueso otoccipital. PDVR: cresta ventricular caudo-dorsal. PtQ: proceso cuadrado del pterigoides. Q: hueso cuadrado. Soc: hueso supraoccipital. Sp: hueso esfenoides. Sq: hueso escamoso. T: tráquea.



**Figura 116.** Imágenes dorsales de TC en ventana tejido blando (A), y de RM en T2W. Cv1: primera vértebra cervical. E: globo ocular. F: hueso frontal. L: cristalino. Mx: hueso maxilar. Ng: glándula nasal. Ob: bulbo olfatorio. P: hueso parietal. Po: hueso postorbitario. Pfr: hueso postfrontal. Px: hueso premaxilar. Prf: hueso prefrontal. Soc: hueso supraoccipital. So: osificaciones escleróticas. Sq: hueso escamoso. TL: telencéfalo.



**Figura 117.** Imágenes sagitales de TC en ventana tejido blando (A), y de RM en T2W. Bs: tronco del encéfalo. C: cerebelo. D: hueso dentario. Di: diencéfalo. F: hueso frontal. Ht: hipotálamo. Me: mesencéfalo. Mh: cuerno medial. Mt: metencéfalo. My: mielencéfalo. N: hueso nasal. Ns: seno nasal. Ob: bulbo olfatorio. Oe: esófago. P: hueso parietal. Pa: hueso palatino. Pfr-Po: hueso postfrontal-postorbital. Prf: hueso prefrontal. Pt: hueso pterigoides. Px: hueso premaxilar. Q: hueso cuadrado. Si: septo interorbitario. Sm: septomaxila. Soc: hueso supraoccipital. Sp: hueso esfenoides. T: tráquea. Tha: tálamo. Tg: lengua. TL: telencéfalo. V: hueso vómer.



**Figura 118.** Angulación encefálica de la iguana rinoceronte con respecto al eje horizontal del mielencéfalo (40°).

Las secciones anatómicas permitieron visualizar diversas estructuras del sistema nervioso central. Se identificaron el cerebro (telencéfalo) y sus dos hemisferios, el diencéfalo (tálamo), la parte dorsal del mesencéfalo con los colículos caudales, la parte ventral del cerebelo y la superficie ventral del tronco encefálico (mielencéfalo). Estas secciones también fueron útiles para la identificación del bulbo olfatorio, localizado y protegido por las proyecciones ventrales del hueso frontal (cristae cranii), extendiéndose rostralmente entre los dos globos oculares (Figuras 112A-115A). Por otro lado, dichas imágenes permitieron la descripción de diversas estructuras del globo ocular, como la córnea, la esclerótica, la retina y el cristalino, así como estructuras asociadas como el tabique interorbitario y el seno orbital (Figura 112A). Del mismo modo, se pudieron identificar diferentes estructuras de la cavidad oral, como la lengua, y de la laringe, el cartílago tiroideo y el ventrículo laríngeo (Figuras 111A, 112A). Además, se pudieron observar los componentes básicos de la cavidad nasal, anterior a las órbitas: el espacio extraconchal, el Stammteil y el conducto coanal interno . Además, se identificaron las estructuras óseas del neurocráneo, como los huesos pterigoideos, frontal, postfrontal-postorbitario, parietal, supraoccipital, basioccipital, exoccipital, otoccipital y esfenoides; así como del esplacnocráneo, como los huesos nasal, vómer, palatino y maxilar (Figuras 111A-115A). También se visualizaron los huesos de la mandíbula, el aparato hioideo, visualizando el cuerpo central entre las ramas laterales del hueso dentario, y la musculatura mandibular asociada. La musculatura no se disecó, por lo que en el estudio se trataron como grupos, incluyendo los músculos pterigoideo, omohioideo, esternohioideo, ceratohioideo, aductor mandibulae externus medialis y su homónimo superficialis. Rostro-medialmente a los dos huesos dentarios, identificamos diferentes músculos relacionados con el aparato hioideo, como el músculo genihioideo, hiogloso e intermandibular (Figuras 111A-114A). Además, se visualizó el cuerno medial ubicado en la superficie dorsal al hueso nasal (Figura 111A).

Mediante las <u>imágenes de TC</u>, se logró identificar distintas estructuras óseas, tales como los huesos prefrontal, frontal, postfrontal-postorbitario, parietal, escamoso, cuadrado, epipterigoideo, pterigoideo, basioccipital, exoccipital, otoccipital y parabasisfenoides, correspondientes al neurocráneo (Figuras 112B-115B). Respecto al esplacnocráneo, se observaron los huesos nasal, premaxilar, maxilar, septomaxilar, vómer, yugal y palatino,

además del septo nasal (Figuras 111B-113B, 116B y 117B). Asimismo, se identificaron estructuras óseas mandibulares como los huesos dentario, angular, surangular, coronoides y articular (Figuras 111B-115B), así como el aparato hioideo (Figuras 111B-115B). Además, revelaron la relación entre los diversos huesos craneales, destacando la unión del hueso nasal con el prefrontal y la del hueso parietal con el postfrontalpostorbitario (Figuras 111B y 113B), así como los procesos palatino y cuadrado del hueso pterigoides que relacionan este hueso con el palatino (rostralmente) y con el cuadrado (caudalmente) (Figuras 114B y 115B respectivamente). Además, se pudo identificar el cuerno medial, dorsal al hueso nasal, con una atenuación tejido blando y una delgada estructura mineral en forma de lámina que lo bordeaba regularmente en su aspecto externo (Figura 111B). En cuanto a la cavidad nasal, las imágenes de TC exhibieron las glándulas nasales como estructuras bilaterales simétricas, de atenuación tejido blando, con márgenes regulares y bien definidos, situadas a ambos lados de la cavidad nasal (Figura 111B). Asimismo, se identificaron estructuras de contenido gas intraluminal, como el conducto interno coanal, el Stammteil (Figura 111B), la cavidad oral, el conducto nasofaríngeo, la tráquea, la cavidad ótica y el esófago (Figuras 112B-115B, 117A). Por otro lado, se distinguieron áreas de atenuación tejido blando medial a la mandíbula y bilateral al aparato hioideo, compatibles con los músculos intermandibularis, genihioideo e hiogloso (M1 en Figuras 111B y 112B), así como los músculos pterigoideo, omohioideo, esternohioideo y ceratohioideo (M2 en Figura 113B), y los músculos adductor mandibulae externus medialis y superficialis, ubicados respectivamente dorsomedial y ventrolateral a la fosa del aductor (M3 y M4 en Figuras 113B y 114B). En lo que respecta a las estructuras blandas del sistema nervioso central, se lograron identificar con una resolución adecuada diversas estructuras como el bulbo olfatorio, el cerebro (telencéfalo y diencéfalo), el cerebelo y el tronco encefálico (Figuras 112B-117B).

Las **imágenes obtenidas por RM** resultaron esenciales para la identificación de estructuras blandas en la cabeza de la iguana, incluyendo el sistema nervioso central, los componentes oculares (humor vítreo y cristalino), y los de la cavidad oral, como la lengua y los músculos masticatorios, presentando una visualización precisa en todas las secuencias empleadas (Figuras 111C-115C). Se pudo observar la diferenciación de las

estructuras oculares, presentando un gran tamaño de los globos oculares en relación con el tamaño de la cabeza (Figuras 112C y 116B). De manera similar a la TC, aquellas estructuras que presentaban contenido gas intraluminal, como el Stammteil, el conducto coanal interno, la cavidad oral, la cavidad ótica, el esófago y la tráquea se visualizaron como áreas hipointensas en todas las secuencias utilizadas, mostrando un efecto de vacío de señal (Figuras 111C-115C). Por otro lado, las estructuras glandulares, como las glándulas nasales se observaron como estructuras bilaterales, con márgenes regulares y bien definidos en ambas cavidades nasales, de intensidad iso/hiperintensa en secuencias T1W y T2W en comparación con la materia gris encefálica (Figuras 111C, 113C y 116B). Por otro lado, el cuerno medial presentó una intensidad hipo/isointensa en T1W en relación con la sustancia blanca, diferenciándose de la corteza mineral externa y del hueso nasal (Figura 111C). A diferencia de la TC, las uniones óseas no fueron claramente distinguibles en las imágenes de RM, aunque se lograron identificar los huesos que componen el neurocráneo, como los huesos frontal, postfrontalpostorbitario, parietal y supraoccipital (Figuras 112C-115C y 117B). La musculatura craneal se observó con una intensidad isohiperintensa en relación con el tálamo en secuencias T2W, lo que facilitó la identificación de los grupos musculares mencionados previamente (Figuras 111C-114C). En relación a las estructuras encefálicas, la corteza cerebral mostró una ligera hiperintensidad en comparación con la sustancia blanca, siendo ésta más hipointensa en secuencias T2W (Figura 113C). El diencéfalo se observó hipointenso en secuencias T2W en comparación con la corteza cerebral, revelando estructuras como el tálamo e hipotálamo (Figuras 113C, 114C y 117B). El tronco encefálico se observó hipo/isointenso en secuencias T2W en relación con la corteza cerebral, presentando una marcada tortuosidad en su alineación horizontal (Figura 117B). Además, se logró visualizar con detalle los colículos caudales y el cuarto ventrículo (Figura 115C). Con la imagen dorsal, se pudo identificar el bulbo olfatorio, situado extracranealmente y extendiéndose rostro-medialmente entre los globos oculares (Figuras 116B).

Los avances tecnológicos en las técnicas de imagen han revolucionado tanto el conocimiento anatómico como el diagnóstico de patologías en diferentes especies animales. Desde métodos convencionales como la radiografía y la ecografía, hasta técnicas avanzadas como la TC y la RM, la mejora en la resolución, la rápida adquisición de imágenes y la reducción de la superposición han supuesto una innovación significativa en la investigación, la práctica clínica diaria y los objetivos académicos (Banzato et al., 2013a). En línea con otros estudios descriptivos de diversas especies de reptiles que han utilizado tanto imágenes de TC, RM y secciones anatómicas (Banzato et al., 2011; Arencibia et al., 2012, 2021; Kaczmarek et al., 2020; Pérez et al., 2021b; Yamaguchi et al., 2021), las imágenes obtenidas en este trabajo resultaron adecuadas para estudiar la cabeza de la iguana rinoceronte. Por un lado, las secciones anatómicas fueron útiles para realizar una detallada descripción anatómica de las estructuras craneales, especialmente aquellas vinculadas al encéfalo, el globo ocular y la laringe. Estudios anteriores han realizado descripciones mediante secciones anatómicas y TC de la cabeza de la iguana verde (Banzato et al., 2013b). Sin embargo, dicha descripción se limitó a etiquetar algunas estructuras encefálicas y laríngeas, así como a aportar diferencias y similitudes con respecto a otras especies de lagartos (*Tupinambis merianae* y Pogona vitticeps). Al comparar la iguana rinoceronte con la iguana verde, se evidenciaron algunas diferencias en las estructuras óseas entre estas especies, como la presencia de tres cuernos en la región nasal dorsal, los cuales estaban ausentes en la iguana verde.

En nuestro trabajo, el uso de imágenes tomográficas proporcionó una excelente definición de las estructuras óseas en comparación con las secciones anatómicas. Por otro lado, las imágenes de RM permitieron la distinción y posterior descripción de diferentes estructuras blandas complementando la información obtenida mediante secciones macroscópicas y TC. En este sentido, las imágenes TC y RM permitieron una identificación precisa de estructuras específicas del globo ocular, como el iris, el cristalino, la cámara anterior, el humor vítreo y las osificaciones escleróticas. Estas estructuras apenas eran discernibles en las imágenes anatómicas, aunque se pudieron identificar la retina, la esclera, el septo interorbital y el cristalino. La identificación de los componentes principales del encéfalo, como el telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo,

metencéfalo y mielencéfalo, se obtuvo con las imágenes transversales de MRI T2W. Se destaca la ubicación extracraneal del bulbo olfatorio, extendiéndose entre los globos oculares, lo cual es un hallazgo significativo que ha sido reportado en otras especies de reptiles pero sin analizar esta estructura en profundidad (Hoops *et al.*, 2018). Las imágenes de secciones anatómicas confirmaron la presencia de estas estructuras y su extensión rostral. Asimismo, se observó que esta estructura se encuentra protegida por unas proyecciones que parten de la superficie ventral del hueso frontal, formando un canal óseo denominadas *crista cranii* (Osborn, 1942). Esta estructura ósea también se ha reportado en especímenes fósiles de tortugas y en escínidos como *Trachylepis skinks* (Paluh and Bauer, 2017; Evers *et al.*, 2020). Curiosamente, en otras especies, como las aves galliformes, los bulbos olfatorios están separados de los hemisferios telencefálicos pero ubicados intracranealmente, protegidos por el hueso frontal (Getty, 2004). Además, se observó una mayor inclinación del encéfalo (40°) en relación con el eje horizontal del cráneo en comparación con estudios previos en reptiles, lo que sugiere diferencias anatómicas notables (Hoops *et al.*, 2018, 2021).

Estudios previos han optado por el uso de µTC para obtener una mayor resolución y describir regiones anatómicas de diferentes especies de reptiles (Paparella and Caldwell, 2022; Kier *et al.*, 2023). Sin embargo, nuestra estrategia de combinar diversas técnicas avanzadas, junto con secciones anatómicas, ha revelado información de gran valor y utilidad. Esto no solo beneficia la práctica clínica, al mejorar la formación de profesionales veterinarios y la atención médica de estos animales en el diagnóstico de posibles enfermedades que puedan afectar a esta región (abscesos, enfermedades metabólicas óseas, fracturas y neoplasias), sino que también enriquece el entorno docente de la anatomía de estas especies al proporcionar material visual y descriptivo. Este enfoque multidisciplinario resalta la importancia de considerar múltiples herramientas para un completo estudio anatómico, dado que permite una identificación más precisa de las estructuras anatómicas al eliminar la superposición, facilitando la visualización de la extensión de posibles lesiones y promoviendo una mejor comprensión de la relación de estructuras anatómicas en el contexto del organismo vivo (Jaber *et al.*, 2018).

**Capítulo 3:** Morfología del cráneo de la iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*) utilizando diferentes técnicas de reconstrucción por Tomografía Computarizada (Proyección de Máxima Intensidad, Renderizado de Volumen Tridimensional y Multiplanar).

Los reptiles, con su notable capacidad de adaptación, se han establecido en una amplia gama de ecosistemas, desde selvas tropicales hasta desiertos, lo que viene reflejado en su amplia diversidad. La familia Iguanidae destaca por especies como la popular iguana verde (*Iguana iguana*), apreciada tanto como mascota como por su papel en la investigación científica. En contraste, la iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*) enfrenta otra realidad. Endémica de la isla de La Española en el Caribe, esta especie se encuentra en grave peligro de extinción situándola en una posición crítica en la Lista Roja de la UICN debido a las actividades humanas que han degradado su hábitat y diezmado su población. En respuesta a esta situación, se han implementado planes de recuperación en cautiverio en diferentes partes del mundo, incluyendo centros de rehabilitación y zoológicos. La falta de estudios detallados sobre la anatomía normal de la cabeza de la iguana rinoceronte puede representar un desafío para los profesionales veterinarios que trabajan con esta especie en centros de recuperación.

Con el propósito de abordar esta brecha de conocimiento, el objetivo principal de este trabajo es la creación de un atlas osteológico detallado de las estructuras craneales de la iguana rinoceronte. Para tal fin, se emplean varias técnicas de reconstrucción tridimensional utilizando TC. Este atlas no solo servirá como una herramienta valiosa en entornos clínicos en la valoración de posibles lesiones que afecten a la región craneal (abscesos, procesos neoplásicos, traumatismos), sino también como recurso docente en la enseñanza de anatomía a estudiantes y especialistas interesados medicina y anatomía de reptiles.

La TC ofrece la posibilidad de realizar reconstrucciones multiplanares (MPR) y tridimensionales que proporcionan información significativa sobre las estructuras bajo estudio y las relaciones entre ellas. Las técnicas de post-procesado más comúnmente

utilizadas son la MIP y la VR3D, entre otras. Así, la MIP potencia la visualización de estructuras óseas y regiones de alto contraste produciendo imágenes bidimensionales, mientras que la VR3D, crea imágenes tridimensionales y permite un mayor control del color y opacidad de los vóxeles, obteniendo una visión conjunta del área de interés. Por otro lado, las reconstrucciones MPR, también pueden procesarse para generar imágenes volumétricas (MPR-VR). Estos datos pueden ser útiles para distinguir la región de interés (ROI) de las estructuras circundantes, ofreciendo una comprensión detallada de la anatomía de regiones tan complejas y con tanta superposición, como ocurre en el cráneo.

Las imágenes obtenidas por TC y postprocesadas, se agruparon según los planos rostral, lateral, dorsal, ventral y caudal. Las Figuras 119-123 están compuestas por 3 imágenes: (A) VR3D, (B) MIP y (C) MPR-VR. Las imágenes se agruparon según los planos rostral (Figura 119), lateral (Figura 120), dorsal (Figura 121), ventral (Figura 122) y caudal (Figura 123). Para una descripción sistemática, los huesos craneales se organizaron en diferentes secciones y fueron descritos teniendo en cuenta la localización, morfología y relaciones interóseas consultando la bibliografía relevante.

#### Huesos del Esplacnocráneo

#### - Hueso Nasal (Os Nasale)

El hueso nasal se articula con su contralateral a nivel del plano sagital medio rostral. Presenta una morfología aproximadamente triangular y ligeramente convexa, formando la pared dorsal de las fosas nasales. Las imágenes de VR y MPR-VR revelaron una buena definición de este hueso, siendo posible observar su articulación rostral con el premaxilar, caudo-dorso-lateralmente con el prefrontal, latero-ventralmente con el maxilar y latero-caudalmente con el lacrimal (Figuras 119, 120, 121A y B). Además, este hueso muestra una protuberancia observada en las imágenes laterales (Figura 120) a modo de pseudocuerno de atenuación tejido blando (Figura 120B), en el borde caudal de las fosas nasales, dorsal a la línea media del hueso nasal.

#### - Hueso Frontal (Os Frontale)

El hueso frontal es el componente principal del techo del cráneo y contribuye al margen orbital dorsal. Es un hueso que presenta dos proyecciones laterales rostralmente que contactan con los huesos nasales y prefrontales, y un proceso medial corto que se extiende entre los huesos nasales en la línea media. Caudalmente alcanza a contactar con el parietal y lateralmente con el hueso postfrontal (Figuras 119, 120 y 121). En la imagen MPR-VR dorsal se observa que el hueso frontal presenta, en su superficie ventral, unas proyecciones, descritas como crestas craneales (*cristae cranii*), que forman un canal estrecho por donde transcurren los bulbos olfatorios (Figura 121C).

#### - Hueso Parietal (Os Parietale)

El parietal es un hueso corto que presenta procesos antero-laterales que contactan con los huesos postfrontales-postorbitales rostralmente, procesos postparietales, que contactan con los huesos escamosos caudo-lateralmente, y procesos paroccipitales caudo-medialmente y los huesos supratemporales lateralmente (Figuras 120, 121A y B, y 123).

#### Huesos del Neurocráneo

#### - Hueso Esfenoides (Os Sphenoidale)

El esfenoides presenta una morfología trapezoidal y forma el suelo de la cavidad craneal. Se articula con el pterigoideo rostro-lateralmente mediante los procesos basipterigoideos y con el basioccipital caudalmente (Figura 122). Latero-caudalmente presenta dos procesos alares que fueron observados en las imágenes ventrales al eliminar el aparato hioideo informáticamente (Figura 122C).

# - Hueso Basioccipital (Os Basioccipitale)

El basioccipital presenta una morfología aproximadamente rectangular y se encuentra en la porción posterior del plano ventral de la base del cráneo, formando el suelo caudal del cráneo, la porción ventral del foramen magno y la porción medial de los cóndilos occipitales (Figuras 122 y 123). En sus extremos laterales presenta dos tubérculos basioccipitales, y articula dorsalmente con el exoccipital.

#### - Hueso Supraoccipital (Os Supraoccipitale)

El hueso supraoccipital forma la parte dorsal del foramen magno, y en su superficie media presenta una cresta sagital. Contacta dorsalmente con el hueso parietal, ventralmente con el hueso otoccipital y rostralmente con el hueso proótico (Figuras 120, 121 y 123).

# - Hueso Otoccipital

El otoccipital es un hueso ubicado ventro-lateralmente al supraoccipital y dorsolateralmente al basioccipital y exoccipital, formando las porciones laterales del agujero magno (Figura 123).

# - Hueso Exoccipital (Os Exoccipitale)

El exoccipital es una estructura ósea aproximadamente triangular que forma parte de la pared caudal del cráneo. Dorsalmente se encuentra en contacto con el otoccipital y ventro-medialmente con el basioccipital (Figura 123).

# - Hueso Proótico

El proótico constituye el tercio rostro-ventral de la cápsula ótica, formando parte de la cavidad coclear, así como del techo y la pared lateral de la cavidad timpánica. Se articula lateralmente con los procesos paroccipitales del opistótico, dorsalmente con el supraoccipital y ventralmente con el parabasiesfenoidal (Figuras 120 y 121C).

### Huesos con dientes del maxilar superior

# - Hueso Premaxilar (Os Premaxillare)

El hueso premaxilar es la estructura ósea más rostral del cráneo. Presenta una base ancha y plana, con una morfología en forma de V. Articula caudo-lateralmente con el maxilar, caudo-dorsalmente con el hueso nasal y caudo-ventralmente con el vómer (Figuras 119, 120 y 121). En la imagen VR3D rostral, se observó una placa alveolar que presenta entre 6-7 posiciones dentarias (Figura 119A).

#### - Hueso Maxilar (Os Maxillare)

El maxilar es un hueso ubicado lateral y ventralmente a la narina en cada lado del cráneo. Es un hueso alto y ancho que presenta un proceso facial triangular en su superficie dorsal. Rostro-lateralmente articula con el premaxilar a través del proceso anterior, también llamado proceso premaxilar, y ventralmente con el hueso pterigoideo, a través del proceso posterior, formando la pared ventro-lateral de la fosa nasal (Figuras 119, 120 y 121). Presenta un borde alveolar en el que se alojan los dientes, que se extienden hasta el extremo posterior del hueso. En todas las reconstrucciones laterales se observa una abertura ubicada en la superficie lateral de ambos huesos maxilares que corresponde a la salida del canal alveolar superior, originando un foramen por donde pasan el nervio maxilar y los vasos sanguíneos acompañantes (Figura 120).

#### Huesos circumorbitales

#### - Hueso Prefrontal (Os Prefrontale)

El prefrontal es una placa ósea triangular ubicada en la pared postero-lateral de la cápsula nasal. Contacta con el hueso nasal rostro-medialmente y ventralmente con el hueso maxilar (Figuras 119A, 120 y 121). Presenta un proceso dorsal que se conecta con el hueso frontal y un proceso ventral que contacta con los huesos palatino, yugal y lacrimal.

#### - Hueso Lacrimal (Os Lacrimale)

El lacrimal es un hueso pequeño ubicado en el margen orbital rostral. Este hueso contacta con el proceso ventral del hueso prefrontal, el maxilar y los huesos yugales (Figura 120). El foramen lacrimal fue ligeramente visible en la imagen dorsal en VR3D ubicado entre el hueso lacrimal y el proceso ventral del prefrontal, a través del cual pasa el conducto nasolacrimal (Figura 121A).

#### - Hueso Yugal (Os Jugale)

El hueso yugal recorre el borde infraorbitario y forma el borde lateral de la órbita ósea. Su porción medial es larga y ancha, mientras que, caudalmente, es curvada y delgada. Rostralmente, contacta con el prefrontal y el lacrimal, y rostro-ventralmente con el maxilar. Dorsalmente, contacta con los huesos postorbitales y escamosos, encerrando el margen caudo-lateral de la órbita (Figuras 120 y 121).

# - Huesos Postfrontal-Postorbital (Processus Postfrontalis)

Los huesos postfrontales delimitan los márgenes caudo-dorsales de las órbitas óseas. Rostralmente articulan con el hueso frontal, lateralmente con el postorbital y medialmente con el parietal. Los huesos postorbitales presentan una morfología aproximadamente triangular, cuyo ápice dorsal contacta con el hueso postfrontal, conformando el margen posterior de la órbita. Además, contacta dorso-caudalmente con el hueso parietal, ventralmente con el hueso yugal y con el hueso escamoso caudolateralmente (Figuras 120, 121A y B, y 123).

#### Huesos Temporales

# - Hueso Escamoso (Os Squamosum)

El hueso escamoso es un hueso ubicado en la superficie lateral de la cápsula ótica. Presenta una morfología trirradiada con tres procesos: un proceso anterior que contacta con los huesos postorbital y yugal; un proceso posterior que contacta con los huesos parietal y supratemporal; y un proceso ventral que contacta con el borde dorsal del hueso cuadrado (Figuras 120, 121A y B, y 123).

# - Hueso Supratemporal

El hueso supratemporal presenta una morfología triangular, ubicado dorsal a la cápsula ótica. Contacta ventralmente con el hueso cuadrado, rostralmente con el hueso escamoso, dorsalmente con el hueso parietal y caudo-medialmente con el proceso paroccipital en el techo del cráneo (Figura 120).

### Derivados del cartílago palatocuadrado

# - Hueso Cuadrado (Os Quadratum)

El cuadrado está compuesto por un pilar central, que sostiene dos cóndilos: el cóndilo dorsal (cefálico), y el cóndilo ventral (mandibular). El cóndilo cefálico es redondeado y se une latero-caudalmente al proceso paroccipital del opistótico, y a los huesos supratemporal y escamoso dorso-medialmente. El cóndilo mandibular puede dividirse

en dos partes: el ala medial, que se articula con el hueso pterigoideo, y el ala lateral, cuyo borde elevado (cresta timpánica) sostiene el tímpano (Figuras 120, 121 y 123).

# - Hueso Epipterigoides

El epipterigoides es una estructura ósea tubular y delgada. Ventralmente, se articula con la superficie dorsal del pterigoides, y dorsalmente, contacta con el hueso parietal y el margen anterior del proótico (Figuras 120 y 123A y C).

# Huesos del paladar

# - Vómer

El vómer es un hueso aproximadamente triangular, cuyo ápice está dirigido rostralmente. Se encuentra ubicado ventro-medial al órgano vomeronasal, sirviendo de soporte. Rostralmente contacta con el hueso premaxilar y ventralmente con el palatino (Figuras 119C, 121C y 122).

# - Hueso Palatino (Os Palatinum)

Los huesos palatinos están ubicados dorsalmente a las coanas. Forman parte de la pared medial del foramen suborbital y son estructuras óseas carentes de dientes. Contacta con los huesos maxilar lateralmente, vómer rostralmente y pterigoideo caudalmente (Figuras 121C y 122).

# - Hueso Pterigoideo (Os Pterygoideum)

Los huesos pterigoideos forman la pared ósea del paladar caudal y la pared caudomedial del foramen suborbital. Presentan tres procesos: el proceso palatino o anterior, el proceso cuadrado o posterior, y el proceso transverso (Figuras 120, 122 y 123). Los procesos palatinos se unen a los huesos palatinos rostralmente. Los procesos cuadrados se articulan con los procesos basipterigoideos y el ala medial del hueso cuadrado caudomedialmente. Los procesos transversos contactan con el hueso maxilar.

#### Huesos de la mandíbula inferior

#### - Hueso Dentario (Os Dentale)

El dentario es el hueso más grande de la mandíbula. Rostralmente, se adelgaza formando una superficie sinfisaria redondeada (Figura 119A). Caudalmente contacta con el coronoides dorsalmente, con el angular y con el surangular ventralmente. En su superficie dorsal contiene las piezas dentarias (Figuras 119, 120 y 122).

# - Hueso Coronoides (Os Coronoideum)

El coronoides es un hueso triangular ubicado dorso-caudal al hueso dentario, rostral a los huesos surangular y angular (Figura 120). Cuenta con cinco procesos: dorsal, labial (lateral), antero-medial, postero-medial y posterior. El dorsal, también denominado coronoides, es delgado y cónico. Los procesos labial y antero-medial contactan con el dentario caudal a las últimas piezas dentarias. El proceso labial también contacta con el surangular, y el proceso antero-medial pasa caudalmente al hueso esplenial y recorre el borde alveolar del dentario. El proceso postero-medial se extiende ventralmente para contactar con el prearticular. El proceso posterior es muy corto y se encuentra con el borde dorsal del surangular.

# - Hueso Angular (Os Angulare)

El angular es una estructura ósea laminar delgada que se extiende en el aspecto medial de la y contribuye a formar la superficie postero-lateral de la mandíbula mandíbula (Figuras 120, 122 y 123C).

# - Hueso Surangular (Os Surangulare)

El surangular forma el aspecto dorso-caudal de la mandíbula. Se encuentra caudal al coronoides, y se extiende lo largo del borde dorsal de la mandíbula. Anteriormente contacta con el dentario y caudo-ventralmente con el angular (Figuras 119A y 120).

# - Huesos Articular (Os Articulare) y Prearticular (Os Prearticulare)

El articular está ubicado en la superficie caudal de la mandíbula. Se articula con el hueso cuadrado y el cóndilo mandibular (Figuras 119, 121, 122 y 123).

# - Hueso esplenial

Es un hueso triangular, localizado en la superficie medial de la mandíbula, por lo que no es observado en las imágenes. Encaja en el extremo posterior de la fosa de Meckel y no se extiende caudalmente del punto medio del coronoides.

# Aparato hioideo (Os Hyoideum)

El aparato hioideo se encuentra en el espacio intermandibular. Esta estructura proporciona soporte a la lengua y la laringe. Presenta un proceso entogloso que se estrecha y se proyecta rostralmente desde el basihioides. El basihioides, es la pieza central, y presenta una forma aproximadamente cuadrada, con los ceratohioides (primero y segundo) proyectándose caudalmente y dispuestos en paralelo entre sí. Además, presenta en su porción rostral lateral dos cuernos hioideos a cada lado (Figura 122).



**Figura 119.** Vista rostral en VR3D (A), MIP (B), y MPR-VR (C), del cráneo de la iguana rinoceronte. An: hueso angular. D: hueso dentario. E: órbita ocular. Eg: proceso entogloso del basihioideo. F: hueso frontal. Ha: aparato hioideo. J: hueso yugal. Mh: cuerno medial. Mk: fosa de Meckel. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. Ng: glándula nasal. Ns: proceso nasal del hueso premaxilar. Pfr: hueso postfrontal. Po: hueso postorbitario. Prf: hueso prefrontal. Px: hueso premaxilar. San: hueso surangular. Sr: receso subconchal. St: *Stammteil*. V: hueso vómer.



**Figura 120.** Vista lateral en VR3D (A), MIP (B), y MPR-VR (C), del cráneo de la iguana rinoceronte. An: hueso angular. Art: hueso articular. Co: coronoides. D: hueso dentario. Ept: hueso epipterigoides. F: hueso frontal. Ha: aparato hioideo. J: hueso yugal. L: hueso lacrimal. Mh: cuerno medial. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. Ns: proceso nasal del premaxilar. P: hueso parietal. Po: hueso postorbitario. Pfr: hueso postfrontal. Prf: hueso prefontal. Px: hueso premaxilar. Pt: hueso pterigoides. Q: hueso cuadrado. Saf: foramen alveolar superior. San: hueso surangular. So: osificaciones escleróticas. Soc: hueso supraoccipital. Sq: hueso escamoso. St: hueso supratemporal.



**Figura 121.** Vista ventral en VR3D (A), MIP (B), y MPR-VR, eliminando informáticamente el aparato hioideo (C), del cráneo de la iguana rinoceronte. An: hueso angular. Ap: proceso alar. Art: hueso articular. Bh: basihioides. Bo: hueso basioccipital. Bpt.pr: proceso basipterigoideo. Cp: proceso cultriforme. D: hueso dentario. Eh: epihioides. Eg: proceso entogloso del basihioides. Ha: aparato hioideo. Hc: cuerno hioideo. Pa: hueso palatino. Pt: hueso pterigoides. PtP: proceso palatino del pterigoides. PtQ: proceso cuadrado del pterigoides. PtT: proceso transverso del pterigoides. Sp: hueso esfenoides. V: hueso vómer. 1cb: primer ceratohioides. 2cb: segundo ceratohioides.



**Figura 122.** Vista dorsal en VR3D (A), MIP (B), y MPR-VR (C), del cráneo de la iguana rinoceronte. Art: hueso articular. cr.cr: *cristae cranii*. E: órbita. F: hueso frontal. J: hueso yugal. Lf: foramen lacrimal. Mh: cuerno medial. Mx: hueso maxilar. N: hueso nasal. Ns: proceso nasal del premaxilar. P: hueso parietal. Pa: hueso palatino. Po: hueso postorbitario. Prf: hueso prefrontal. Pfr: hueso postfrontal. Pro: hueso proótico. Px: hueso premaxilar. Q: hueso cuadrado. Soc: hueso supraoccipital. So: osificaciones escleróticas. Sq: hueso escamoso. V: hueso vómer.



**Figura 123.** Vista caudal en VR3D (A), MIP (B), y MPR-VR (C), del cráneo de la iguana rinoceronte. An: hueso angular. Art: hueso articular. Bh: basihioides. Bo: hueso basioccipital. Bt: tubérculo basal. Eh: epihioides. Eg: proceso entogloso del basihioides. Ept: hueso epipterigoides. Ex: hueso exoccipital. Fm: foramen magno. Hc: cuerno hioideo. Ot: hueso otoccipital. P: hueso parietal. Ppo: proceso paroccipital del opistótico. Po: hueso postorbital. Pt: hueso pterigoides. Q: hueso cuadrado. Sc: cresta sagital. Soc: hueso supraoccipital. Sq: hueso escamoso. 1cb: primer ceratohioides. 2cb: segundo ceratohioides.

Los resultados obtenidos revelaron una morfología triangular del cráneo en las proyecciones dorsal y ventral, así como una región preorbital alargada en comparación con la iguana verde en la proyección lateral. Las imágenes en VR3D destacaron la modificación dorsal del hueso nasal y la apófisis del cuerno medial. Se observó una menor dimensión del aparato hioides en comparación con la iguana verde. La técnica

MIP, al potenciar los vóxeles de mayor intensidad, permitió visualizar las relaciones interóseas de los huesos del cráneo, y fue la única técnica con la que se pudo observar el cuerno medial, mostrando una forma triangular con atenuación tejido blando en su interior y una fina cortical hiperatenuante. La técnica VR-MPR, al proporcionar una mayor profundidad en las estructuras óseas, reveló las *cristae cranii*, unas proyecciones ventrales al hueso frontal a modo de canales, por donde transcurren los bulbos olfatorios que, en esta especie (al igual que en otros reptiles como el dragón barbudo), presentan localización extracraneal (Hoops *et al.*, 2018).

En este estudio, se utilizaron diferentes técnicas de reconstrucción por TC (VR3D, MIP y MPR-VR), que demostraron una diferenciación adecuada de las estructuras óseas que conforman el cráneo de la iguana rinoceronte. A partir de las imágenes dorsales y ventrales (Figuras 121, 122), así como de las imágenes laterales (Figura 120), se observó una morfología triangular del cráneo. En esta última proyección (Figura 120), también se observó una región preorbital alargada en comparación con la iguana verde (Banzato et al., 2012). Utilizando la reconstrucción volumétrica de superficie (VR3D), se observó la modificación dorsal del hueso nasal, mostrando un pequeño proceso donde emerge el cuerno medial. Además, este procedimiento fue útil para identificar estructuras específicas como el foramen lagrimal. Sin embargo, esta estructura solo pudo visualizarse en la imagen MIP, mostrando una forma triangular con atenuación de tejido blando. Algo similar ocurre con la visualización del foramen alveolar superior, ubicado en el hueso maxilar, que se observa con mayor definición en la reconstrucción volumétrica multiplanar (MPR-VR), y no tan bien definido con MIP. Las reconstrucciones en general mostraron una adecuada difenciación de las relaciones óseas, siendo la MIP la más superior. Se destacan la unión del surangular y angular con el articular caudalmente y con el dentario rostralmente en la imagen MIP lateral (Figura 120B), la unión del proceso ventral del prefrontal con el hueso yugal en la VR3D lateral (Figura 120A), así como los tres procesos del pterigoides en la MPR-VR ventral (Figura 122C).

Cabe destacar que el hueso opistótico no pudo ser identificado en las imágenes reconstruidas, aunque sí se observaron los procesos paroccipitales. En la bibliografía relevante se reporta que en reptiles escamosos se puede encontrar fusionado al

exoccipital en el momento de la eclosión (Evans, 2008). El exoccipital sí fue identificado, por lo que se concluye que el opistótico se encuentra fusionado a éste en la iguana rinoceronte.

Por otro lado, el análisis de imágenes subjetivas y las mediciones objetivas de este estudio también demostraron un aparato hioides más pequeño en comparación con la iguana verde, aunque similar al de otras especies como la iguana marina de las Galápagos (*Amblyrhynchus cristatus*) (Lima *et al.*, 2014; Paparella and Caldwell, 2022). En las imágenes VR3D, MIP y MPR-VR de la iguana rinoceronte, se observó que la bóveda del cráneo presentaba una conformación más alargada, que contrasta con la convexidad observada en la iguana verde. Además, se observó una región preorbital más alargada, en contraposición con la que se reporta de la iguana verde y de la iguana marina de las Galápagos que presentan una verticalización del proceso nasal del hueso premaxilar (Paparella y Caldwell, 2022).

A pesar de la importancia y utilidad de estas reconstrucciones, también pueden presentar ciertas limitaciones. En las imágenes tridimensionales (3D), es difícil distinguir entre vóxeles cercanos con UH similares, y la interpolación a veces puede llenar las líneas de sutura, ocultando o subestimando información valiosa. Es por eso que las reconstrucciones MIP son tan importantes, que, aunque visualmente no son tan atractivas, nos brindan más detalle y una información más real. Por lo tanto, la combinación de diferentes técnicas de reconstrucción TC (VR3D, MIP, MPR-VR) proporciona información esencial para descripciones anatómicas del cráneo de la iguana rinoceronte, que podría utilizarse con fines clínicos, así como una herramienta para enseñar anatomía en escuelas de veterinaria. La combinación de estas imágenes mejoró la calidad de las descripciones morfológicas y pretende contribuir al conocimiento de la anatomía de esta especie. Además, estas técnicas de reconstrucción parecen ser útiles para evaluar numerosos procesos que afectan al cráneo de estos animales, como abscesos, enfermedades metabólicas óseas, fracturas y neoplasias, al minimizar las dificultades para la visualización de la extensión de los diferentes tipos de lesiones.

- 1. Las imágenes obtenidas utilizando técnicas avanzadas de diagnóstico por imagen (TC y RM), proporcionaron una adecuada visualización de las principales de las principales formaciones anatómicas que integran la región del cráneo de las especies objeto de estudio. Además, dicha información puede ser empleada en la identificación de posibles patologías que afectan a esta región, donde se incluyen abscesos, enfermedades óseas metabólicas, fracturas y procesos neoplásicos.
- 2. El empleo de técnicas de postprocesado como Proyecciones de Máxima Intensidad (MIP) y Renderizado de Volumen (VR3D y MPR-VR) facilitaron la identificación de las estructuras óseas que componen el cráneo de la tortuga boba (Caretta caretta), y de la iguana verde (Iguana iguana). De esta manera, se logró identificar la presencia del hueso cuadratoyugal, la ausencia del hueso lacrimal y un aparato hioideo significativamente menos desarrollado en la tortuga boba, a diferencia de la iguana verde donde se observaron resultados opuestos.
- 3. Las imágenes obtenidas tanto por técnicas de diagnóstico por imagen avanzadas como con las secciones anatómicas, facilitaron la identificación de hallazgos relevantes en el cráneo de la iguana rinocertonte (Cyclura cornuta cornuta), entre los que se destaca la ubicación extracraneal de los bulbos olfatorios, que se extienden rostralmente hasta la región interorbitaria, protegidos por un conducto óseo que parte de la porción ventral del hueso frontal (cristae cranii).
- 4. Las imágenes de RM de la iguana rinoceronte revelaron estructuras que no fueron discernibles en las imágenes de TC. Entre ellas, se destacan estructuras encefálicas como los colículos caudales, tálamo, fisura longitudinal del cerebro, ventrículos laterales y cuarto ventrículo, entre otras.

- The images obtained using advanced diagnostic imaging techniques (CT and MRI) provided adequate visualization of the main anatomical structures that make up the cranial region of the species under study. Furthermore, this information can be employed in identifying potential pathologies affecting this region, including abscesses, metabolic bone diseases, fractures, and neoplastic processes.
- 2. The use of post-processing techniques such as Maximum Intensity Projections (MIP) and Volume Rendering (VR3D and MPR-VR) facilitated the identification of the bony structures composing the skull of the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) and the green iguana (*Iguana iguana*). Thus, the presence of the quadrate bone, absence of the lacrimal bone, and a significantly less developed hyoid apparatus in the loggerhead sea turtle were identified, contrasting with the opposite findings in the green iguana.
- 3. Images obtained through both advanced diagnostic imaging techniques and anatomical sections facilitated the identification of relevant findings in the skull of the rhinoceros iguana (*Cyclura cornuta cornuta*) among which the extracranial location of the olfactory bulbs stands out. These extend rostrally to the interorbital region, protected by a bony canal originating from the ventral portion of the frontal bone (*cristae cranii*).
- 4. MRI images of the rhinoceros iguana revealed structures that were not discernible in CT images. These include brain structures such as the caudal collicles, thalamus, longitudinal fissure of the brain, lateral ventricles, and fourth ventricle, among others.

La iguana verde (*Iguana iguana*), la iguana rinoceronte (*Cyclura cornuta cornuta*) y la tortuga boba (*Caretta caretta*) son especies de reptiles que enfrentan amenazas significativas debido a diversas actividades antropogénicas, como la destrucción de hábitat, la caza furtiva o incidental, o la introducción de especies invasoras, mermando su población. Debido a estas presiones, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) las ha clasificado como especies vulnerables o en peligro crítico de extinción en la Lista Roja de especies amenazadas. El alto interés de los reptiles por la comunidad científica hace que, en esta ocasión, y especialmente desde el punto de vista anatómico, se pretenda realizar una descripción de la morfología craneal de estas tres especies.

La presente Tesis Doctoral llevada a cabo en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, tiene como objetivo primordial realizar un análisis descriptivo de la morfología craneal de las tres especies mencionadas, utilizando una combinación de técnicas avanzadas de diagnóstico por imagen (TC y RM) y secciones anatómicas. En particular, se hace hincapié en la descripción del cráneo de la iguana rinoceronte, al ser una especie menos estudiada en este aspecto, con el fin de contribuir al conocimiento y proporcionar información que puede ser muy valiosa en labores en pro de su conservación y manejo en centros de recuperación. Haciendo uso de imágenes de TC multiplanares en diversas ventanas y diferentes técnicas de reconstrucción (MIP, VR3D y MPR-VR), de RM en diferentes planos y secuencias (T1W y T2W), y secciones anatómicas, se aportan nuevos datos para el estudio e identificación de esta especie, y de las anteriormente mencionadas.

La investigación se ha apoyado en una detallada revisión bibliográfica tratando de abarcar las principales técnicas de diagnóstico por imagen utilizadas en la medicina veterinaria (radiografía, ecografía, TC y RM), tanto para el estudio anatómico, como clínico de las especies de interés. Cada sección de la tesis enfocándose en la actualización de las citas bibliográficas, pretende proporcionar al lector un texto accesible que refleje el estado actual del área de conocimiento. La síntesis de información proveniente de diversas fuentes ha permitido contextualizar la

investigación en el marco más amplio de la medicina veterinaria y la anatomía comparada de diferentes especies de reptiles.

Para la obtención de las imágenes de TC se utilizó un tomógrafo modelo Toshiba Astelion 16 cortes Canon Medical System<sup>®</sup>, en las instalaciones del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. La obtención de las imágenes de RM se realizó mediante un equipo modelo Vantage Elan 1.5T Canon Medical System<sup>®</sup>, en las instalaciones del Hospital Veterinario IVC Evidensia Los Tarahales. Del conjunto de imágenes y secciones anatómicas se seleccionaron cuidadosamente aquellas que destacaban por su calidad y que proporcionaban un nivel detallado de información sobre las diversas estructuras craneales desde un punto de vista anatómico. Así, el empleo de estas técnicas facilitó la identificación y posterior descripción de estructuras de la iguana rinoceronte como los bulbos olfatorios, los cuales se localizan fuera del cráneo ventralmente al hueso frontal del que parten unas proyecciones a modo de canal óseo que lo protege (*cristae cranii*). Mediante las reconstrucciones por TC, se obtuvo una visión integral del cráneo de las tres especies, permitiendo observar con mayor nivel de detalle las relaciones entre las diferentes estructuras óseas. En ese sentido, se identificaron diferencias significativas entre la tortuga boba y la iguana verde, como la ausencia del hueso lagrimal y la presencia del hueso cuadratoyugal en la tortuga, mientras que en la iguana verde se observó lo contrario.

Los hallazgos resaltan que las técnicas avanzadas de diagnóstico por imagen y las secciones anatómicas no solo han mejorado la comprensión de las estructuras craneales, con posibles beneficios en la enseñanza, sino que también proporcionan información crucial para los veterinarios clínicos, especialmente en centros dedicados a la rehabilitación de especies exóticas en peligro o en situación vulnerable. Así, la aplicación de estos métodos no solo impulsa el avance del conocimiento científico, sino que también tiene importantes implicaciones prácticas y clínicas para la conservación y el cuidado de especies en riesgo.

**Palabras clave:** anatomía, reptiles, tomografía computarizada, resonancia magnética, secciones anatómicas, iguana verde, iguana rinoceronte, tortuga boba.

The green iguana (*Iguana iguana*), the rhinoceros iguana (*Cyclura cornuta cornuta*), and the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) are reptile species facing significant threats due to various anthropogenic activities such as habitat destruction, incidental catch, or the introduction of invasive species, leading to population decline. Consequently, the International Union for Conservation of Nature (IUCN) has classified them as vulnerable or critically endangered species on the Red List of Threatened Species.

Given the scientific community's keen interest in reptiles, particularly from an anatomical perspective, this doctoral thesis conducted at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Las Palmas de Gran Canaria aims to provide a descriptive analysis of the cranial morphology of these three species. Advanced diagnostic imaging techniques (CT and MRI) and anatomical sections are employed, with a focus on describing the rhinoceros iguana's skull due to its comparatively limited study, aiming to contribute to knowledge and provide valuable information for conservation efforts in rehabilitation centers.

Utilizing multiplanar CT images in various windows and different reconstruction techniques (MIP, VR3D, and MPR-VR), as well as MRI images in different planes and sequences (T1W and T2W), alongside anatomical sections, new insights are provided for the study and identification of these species. The research is underpinned by an extensive literature review covering key imaging techniques used in veterinary medicine (radiography, ultrasound, CT, and MRI) for both anatomical and clinical studies of the species of interest. Each thesis section focuses on updating bibliographic citations to provide readers with accessible text reflecting the current state of knowledge. Synthesizing information from various sources has allowed contextualizing the research within the broader framework of veterinary medicine and comparative anatomy of reptile species.

CT images were acquired using a Toshiba Astelion 16-slice scanner Canon Medical System<sup>®</sup> at the Veterinary Clinical Hospital of the University of Las Palmas de Gran Canaria. MRI images were obtained using a Vantage Elan 1.5T scanner Canon Medical System<sup>®</sup> at the IVC Evidensia Los Tarahales Veterinary Hospital. Careful selection of

images and anatomical sections highlighted those with high quality and detailed information on various cranial structures from an anatomical perspective.

Consequently, the use of these techniques facilitated the identification and subsequent description of structures in the rhinoceros iguana, such as the olfactory bulbs, which are located outside the skull ventrally to the frontal bone, projecting into a bony channel that protects them (*cristae cranii*). Through CT reconstructions, an integrated view of the skulls of the three species was obtained, allowing for a more detailed observation of the relationships between different bone structures. In this regard, significant differences were identified between the loggerhead sea turtle and the green iguana, such as the absence of the lacrimal bone and the presence of the quadratojugal bone in the turtle, whereas the opposite was observed in the green iguana.

The findings highlight that advanced diagnostic imaging techniques and anatomical sections have not only enhanced the understanding of cranial structures, potentially benefiting teaching, but also provide crucial information for clinical veterinarians, especially in centers dedicated to the rehabilitation of endangered or vulnerable exotic species. Thus, the application of these methods not only advances scientific knowledge but also has significant practical and clinical implications for the conservation and care of at-risk species.

**Keywords:** anatomy, reptiles, computed tomography, magnetic resonance, gross-sections, green iguana, rhinoceros iguana, loggerhead turtle.
- Abdala, F., Lobo, F. and Scrocchi, G. (1997). Patterns of ossification in the skeleton of Liolaemus quilmes (Iguania: Tropiduridae). *Amphibia Reptilia* **18**, 75–83.
- Abou-Madi, N., Scrivani, P. V., Kollias, G. V. and Hernandez-Divers, S. M. (2004). Diagnosis of skeletal injuries in chelonians using computed tomography. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **35**, 226–231. doi: 10.1638/03-024.
- Agha, M., Ennen, J. R., Nowakowski, A. J., Lovich, J. E., Sweat, S. C. and Todd, B. D. (2018). Macroecological patterns of sexual size dimorphism in turtles of the world. *Journal of Evolutionary Biology* **31**, 336–345. doi: 10.1111/jeb.13223.
- Ahranjani, B. A., Shojaei, B., Tootian, Z., Masoudifard, M. and Rostami, A. (2016). Anatomical, radiographical and computed tomographic study of the limbs skeleton of the Euphrates soft shell turtle (Rafetus euphraticus). *Veterinary Research Forum* 7, 117–124.
- Anderson, C. L., Kabalka, G. W., Layne, D. G., Dyke, J. P. and Burghardt, G. M. (2000). Noninvasive high field MRI brain imaging of the garter snake (Thamnophis sirtalis). *Copeia* 8511, 265–269. doi: 10.1643/0045-8511(2000)2000[0265:NHFMBI]2.0.CO;2.
- Arencibia, A., Rivero, M. A., De Miguel, I., Contreras, S., Cabrero, A. and Orós, J. (2006). Computed tomographic anatomy of the head of the loggerhead sea turtle (Caretta caretta). *Research in Veterinary Science* 81, 165–169. doi: 10.1016/j.rvsc.2005.12.009.
- Arencibia, A., Hidalgo, M. R., Vázquez, J. M., Contreras, S., Ramírez, G. and Orós, J. (2012). Sectional anatomic and magnetic resonance imaging features of the head of juvenile loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *American Journal of Veterinary Research* 73, 1119–1127. doi: 10.2460/ajvr.73.8.1119.
- Arencibia, A., Melián, A. and Orós, J. (2021). Anatomic interactive atlas of the loggerhead sea turtle (Caretta caretta) head. *Animals* **11**, 1–13. doi: 10.3390/ani11010198.
- Avens, L., Taylor, J. C., Goshe, L. R., Jones, T. T. and Hastings, M. (2009). Use of skeletochronological analysis to estimate the age of leatherback sea turtles Dermochelys coriacea in the western North Atlantic. *Endangered Species Research* **8**, 165–177. doi: 10.3354/esr00202.
- Banzato, T., Russo, E., Toma, A. Di, Palmisano, G. and Zotti, A. (2011). Evaluation of radiographic, computed tomographic, and cadaveric anatomy of the head of boa constrictors. 72, 1–8.
- Banzato, T., Selleri, P., Veladiano, I. A., Martin, A., Zanetti, E. and Zotti, A. (2012). Comparative evaluation of the cadaveric, radiographic and computed tomographic anatomy of the heads of green iguana (Iguana iguana), common tegu (Tupinambis merianae) and bearded dragon (Pogona vitticeps). BMC Veterinary Research 8, 1. doi: 10.1186/1746-6148-8-53.
- Banzato, T., Hellebuyck, T., Van Caelenberg, A., Saunders, J. H. and Zotti, A. (2013a). A review of diagnostic imaging of snakes and lizards. *Veterinary Record* 173, 43–49. doi: 10.1136/vr.101450.
- Banzato, T., Selleri, P., Veladiano, I. A. and Zotti, A. (2013b). Comparative evaluation of the cadaveric and computed tomographic features of the coelomic cavity in the green iguana (Iguana iguana), black and white tegu (Tupinambis merianae) and bearded dragon (Pogona vitticeps). Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia 42, 453–460. doi:

10.1111/ahe.12037.

- Barahona, F., López-Jurado, L. F. and Mateo, J. A. (1998). Estudio anatómico del esqueleto en el género Gallotia (Squamata: Lacertidae). *Revista Española de Herpetología* 12, 69–89.
- Barahona, F., Evans, S. E., Mateo, J. A., García-Márquez, M. and López-Jurado, L. F. (2000). Endemism, gigantism and extinction in island lizards: The genus Gallotia on the Canary Islands. *Journal of Zoology* 250, 373–388. doi: 10.1017/S0952836900003101.
- Barrett, J. F. and Keat, N. (2004). Artifacts in CT : Recognition and Avoidance. Radiographics 1679–1691.
- Bever, G. S., Lyson, T. R., Field, D. J. and Bhullar, B. A. S. (2015). Evolutionary origin of the turtle skull. *Nature* 525, 239–242. doi: 10.1038/nature14900.
- Bever, G. S., Lyson, T. R., Field, D. J. and Bhullar, B. A. S. (2016). The amniote temporal roof and the diapsid origin of the turtle skull. *Zoology* **119**, 471–473. doi: 10.1016/j.zool.2016.04.005.
- Billings, B. K., Behroozi, M., Helluy, X., Bhagwandin, A., Manger, P. R., Güntürkün, O. and Ströckens, F. (2020). A three-dimensional digital atlas of the Nile crocodile (Crocodylus niloticus) forebrain. *Brain Structure and Function* 225, 683–703. doi: 10.1007/s00429-020-02028-3.
- Bock, B., Malone, C. L., Knapp, C., Aparicio, J., Avila-Pires, T. C. S., Cacciali, P., Caicedo, J. R., Chaves, G.,
  Cisneros-Heredia, D. F., Gutiérrez-Cárdenas, P., Lamar, W., Moravec, J., Perez, P., Porras, L. W.,
  Rivas, G., Scott, N., Solórzano, A. and Sunyer, J. (2022). Iguana iguana, Common Green Iguana. *The IUCN Red List of Threatened Species* 823c5,. doi: https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK2022 2.RLTS.T174481A218317281.en.
- Böhme, W. and Ziegler, T. (2009). A review of iguanian and anguimorph lizard genitalia (squamata: Chamaeleonidae; Varanoidea, shinisauridae, xenosauridae, anguidae) and their phylogenetic significance: Comparisons with molecular data sets. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 47, 189–202. doi: 10.1111/j.1439-0469.2008.00495.x.
- Boots, M., Gardner, B. R. and Booth, R. (2022). Contrast radiography to determine limb viability in entangled sea turtles with constriction injuries. *Australian Veterinary Journal* **100**, 566–569. doi: 10.1111/avj.13203.
- **Broeckhoven, C. and Du Plessis, A.** (2018). X-ray microtomography in herpetological research: A review. *Amphibia Reptilia* **39**, 377–401. doi: 10.1163/15685381-20181102.
- Bushberg, J. T., Seibert, J. A., Leidholdt, Edwin M., J., Boone, J. M. and Goldschmidt, Edward J., J. (2003). The essential physics of medical imaging. Medical Physics. Lippincott Williams & Wilkins.
- Canals L, M. (2008). Historia de la resonancia magnetica de fourier a Lauterbur y Mansfield: En ciencias, nadie sabe para quien trabaja. *Revista Chilena de Radiologia* 14, 39–45. doi: 10.4067/s0717-93082008000100009.
- **Carlsen, A. W.** (2017). Frequency of decompression illness among recent and extinct mammals and "reptiles": areview. *Science of Nature* **104**,. doi: 10.1007/S00114-017-1477-1.
- Casale, P. and Tucker, A. D. (2017). Caretta caretta, Loggerhead Turtle. *The IUCN Red List of Threatened Species* 8235,. doi: http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-2.RLTS.T3897A119333622.en.
- Cerda, I. A., Sterli, J. and Scheyer, T. M. (2016). Bone shell microstructure of Condorchelys antiqua Sterli,

2008, a stem turtle from the Jurassic of Patagonia. *Comptes Rendus - Palevol* **15**, 128–141. doi: 10.1016/j.crpv.2015.01.004.

- Chen, I. H., Yang, W. and Meyers, M. A. (2015). Leatherback sea turtle shell: A tough and flexible biological design. *Acta Biomaterialia* 28, 2–12. doi: 10.1016/j.actbio.2015.09.023.
- Christman, J., Devau, M., Wilson-Robles, H., Hoppes, S., Rech, R., Russell, K. E. and Heatley, J. J. (2017). Oncology of Reptiles: Diseases, Diagnosis, and Treatment. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice* 20, 87–110. doi: 10.1016/j.cvex.2016.07.003.
- Cieri, R. L. (2018). The axial anatomy of monitor lizards (Varanidae). *Journal of Anatomy* 233, 636–643. doi: 10.1111/joa.12872.
- Cobos, R. M. and Ribas, R. (1987). Reptiles : Tortugas , Serpientes , Lagartos. *Revista de AVEPA* 7, 133–150.
- **Costa, J. and Soria, J. A.** (2015). *Resonancia Magnética dirigida a técnicos superiores en imagen para el diagnóstico*. Elsevier, Barcelona, España.
- Croft, L. A., Graham, J. P., Schaf, S. A. and Jacobson, E. R. (2004). Evaluation of magnetic resonance imaging for detection of internal tumors in green turtles with cutaneous fibropapillomatosis. *Journal* of the American Veterinary Medical Association 225, 1428–1435. doi: 10.2460/javma.2004.225.1428.
- **Curie, J. and Curie, P.** (1880). Développement par compression de l'électricité polaire dans les cristaux hémièdres à faces inclinées. *Compte Rendue de l'Acadamie Scientifique* **91**, 294–295.
- Curtis, N., Jones, M. E. H., Evans, S. E., O'Higgins, P. and Fagan, M. J. (2013). Cranial sutures work collectively to distribute strain throughout the reptile skull. *Journal of the Royal Society Interface* 10, 1–8. doi: 10.1098/rsif.2013.0442.
- D, F., C, V., S, C., M, R., D, L., M, C. and A., D. B. (2020). Assessment of residual vascularization of the limb as a prognostic factor to avoid sea turtle flipper amputation. *Journal of Wildlife Diseases* 56, 145– 156.
- Davari, F., Zehtabvar, O., Molazem, M., Tootian, Z., Soltani, M. and Khanamooie-Ashi, M. (2020). Computed Tomographic Anatomy of the Lungs, Bronchi and Trachea in the Caspian Pond Turtle (Mauremys caspica). *Iranian Journal of Veterinary Surgery* 15, 70–77. doi: 10.30500/ivsa.2020.218718.1210.
- Daza, J. D. and Bauer, A. M. (2010). The circumorbital bones of the gekkota (reptilia: squamata). Anatomical Record 293, 402–413. doi: 10.1002/ar.21039.
- De Braga, M. and Reisz, R. R. (1996). The early permian reptile acleistorhinus pteroticus and its phylogenetic position. *Journal of Vertebrate Paleontology* 16, 384–395. doi: 10.1080/02724634.1996.10011328.
- de Oliveira, R. E. M., Attademo, F. L. N., de Moura, C. E. B., de Araujo, H. N., da Silva Costa, H., Reboucas,
  C. E. V., de Lima Silva, F. J. and de Oliveira, M. F. (2020). Marine debris ingestion and the use of diagnostic imaging in sea turtles: A review. *Veterinarni Medicina* 65, 511–527. doi: 10.17221/50/2020-VETMED.

- **De Queiroz, K.** (1982). The Scleral Ossicles of Sceloporine Iguanids : A Reexamination with Comments on Their Phylogenetic Significance. *Herpetologica* **38**, 302–311.
- De Quirós, Y. B., González-Díaz, Ó., Saavedra, P., Arbelo, M., Sierra, E., Sacchini, S., Jepson, P. D., Mazzariol, S., Di Guardo, G. and Fernández, A. (2011). Methodology for in situ gas sampling, transport and laboratory analysis of gases from stranded cetaceans. *Scientific Reports* 1, 1–10. doi: 10.1038/srep00193.
- Dennison, S., Moore, M. J., Fahlman, A., Moore, K., Sharp, S., Harry, C. T., Hoppe, J., Niemeyer, M., Lentell, B. and Wells, R. S. (2012). Bubbles in live-stranded dolphins. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 1396–1404. doi: 10.1098/rspb.2011.1754.
- Di Bello, A., Valastro, C., Staffieri, F. and Crovace, A. (2006). Contrast radiography of the gastrointestinal tract in sea turtles. *Veterinary Radiology and Ultrasound* **47**, 351–354. doi: 10.1111/j.1740-8261.2006.00152.x.
- Di Ianni, F., Volta, A., Pelizzone, I., Manfredi, S., Gnudi, G. and Parmigiani, E. (2015). Diagnostic sensitivity of ultrasound, radiography and computed tomography for gender determination in four species of lizards. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 56, 40–45. doi: 10.1111/vru.12186.
- **Divers, S. J. and Stahl, S. J. eds.** (2018). *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery*. Elsevier Health Sciences.
- **Drost, W. T.** (2018). Physics of Ultrasound Imaging. In *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*, pp. 67–79. Elsevier, 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043.
- **Evans, S. E.** (2008). The Skull of Lizards and Tuatara. In *Biology of the Reptilia. The skull of Lepidosauria*, pp. 1–347. Society for the Study of Amphibians and Reptiles.
- Evers, S. W., Rollot, Y. and Joyce, W. G. (2020). Cranial osteology of the Early Cretaceous turtle Pleurosternon bullockii (Paracryptodira: Pleurosternidae). *PeerJ* 2020,. doi: 10.7717/peerj.9454.
- Fazio, C. (2021). Diagnostic Imaging. In Exotic Animal Emergency and Critical Care Medicine, pp. 143–160. John Wiley & Sons, Inc. doi: 10.1002/9781119149262.ch10.
- Fernández, A., Edwards, J. F., Rodríguez, F., Espinosa De Los Monteros, A., Herráez, P., Castro, P., Jaber, J. R., Martín, V. and Arbelo, M. (2005). "Gas and fat embolic syndrome" involving a mass stranding of beaked whales (Family Ziphiidae) exposed to anthropogenic sonar signals. *Veterinary Pathology* 42, 446–457. doi: 10.1354/vp.42-4-446.
- Ferreira, G. S., Bronzati, M., Langer, M. C. and Sterli, J. (2018). Phylogeny, biogeography and diversification patterns of side-necked turtles (Testudines: Pleurodira). *Royal Society Open Science* 5, 1–17.
- Ferreira, G. S., Lautenschlager, S., Evers, S. W., Pfaff, C., Kriwet, J., Raselli, I. and Werneburg, I. (2020). Feeding biomechanics suggests progressive correlation of skull architecture and neck evolution in turtles. *Scientific Reports* **10**, 1–11. doi: 10.1038/s41598-020-62179-5.
- Fielder, S. and Brandão, J. (2022). Endocrine Diagnostics for Exotic Animals. Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice 25, 631–661. doi: 10.1016/j.cvex.2022.06.003.
- Fike, J. R., LeCouter, R. A. and Cann, C. E. (1981). Anatomy of the Canine Brain Using High Resolution

Computed Tomography. American College of Veterinary Radiology 22, 236–243.

- Fishman, E. K., Ney, D. R., Heath, D. G., Corl, F. M., Horton, K. M. and Johnson, P. T. (2006). Volume rendering versus maximum intensity projection in CT angiography: What works best, when, and why. *Radiographics* 26, 905–922. doi: 10.1148/rg.263055186.
- Fontes Caramé, D., Gómez Herrador, M. J. and Natoli Vargas, O. (2016). Reconstrucciones 3D: Volume rendering vs. HD MIP ponderado. *Imagen Diagnostica* **7**, 47–49. doi: 10.1016/j.imadi.2016.01.004.
- Franchini, D., Cavaliere, L., Valastro, C., Carnevali, F., Van Der Esch, A., Lai, O. and Di Bello, A. (2016). Management of severe head injury with brain exposure in three loggerhead sea turtles Caretta caretta. *Diseases of Aquatic Organisms* **119**, 145–152. doi: 10.3354/dao02983.
- Franchini, D., Paci, S., Ciccarelli, S., Valastro, C., Salvemini, P. and Di Bello, A. (2023). Clinical Findings, Management, Imaging, and Outcomes in Sea Turtles with Traumatic Head Injuries: A Retrospective Study of 29 Caretta caretta. *Animals* 13,. doi: 10.3390/ani13010152.
- Gálvez M, M., Bravo C, E., Rodríguez C, P., Farías A, M. and Cerda C, J. (2007). Caracteristicas de las hemorragias intracraneanas espontaneas en TC y RM. *Revista Chilena de Radiologia* **13**, 12–25. doi: 10.4067/S0717-93082007000100005.
- García-Párraga, D., Crespo-Picazo, J. L., De Quirós, Y. B., Cervera, V., Martí-Bonmati, L., Díaz-Delgado,
  J., Arbelo, M., Moore, M. J., Jepson, P. D. and Fernández, A. (2014). Decompression sickness ('the bends') in sea turtles. *Diseases of Aquatic Organisms* 111, 191–205. doi: 10.3354/dao02790.
- Gauthier, J., Kluge, A. G. and Rowe, T. (1988). Amniote Phylogeny and the Importance of Fossils. *Cladistics*4, 105–209. doi: 10.1111/j.1096-0031.1988.tb00514.x.
- Getty, R. (2004). *The Anatomy of the Domestic Animals*, 5th Edn. Macmillan Company of India Limited, 1977.
- Geva, T. (2006). Magnetic resonance imaging: Historical perspective. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 8, 573–580. doi: 10.1080/10976640600755302.
- Gili, J. (2016). Introduccion biofisica a la Resonancia Magnetica en Neuroimagen. *Books Medicos* 03–2, 229.
- Gilman, C. A. and Wolf, B. O. (2007). Use of portable ultrasonography as a nondestructive method for estimating reproductive effort in lizards. *Journal of Experimental Biology* **210**, 1859–1867. doi: 10.1242/jeb.001875.
- Giraldo E., C. (2003). Principios básicos de ultrasonografía veterinaria. *Revista MVZ Córdoba* 303–309. doi: 10.21897/rmvz.508.
- **Głodek, J., Adamiak, Z. and Przeworski, A.** (2016). Magnetic resonance imaging of reptiles, rodents, and lagomorphs for clinical diagnosis and animal research. *Comparative Medicine* **66**, 216–219.
- Greco, A., Meomartino, L., Gnudi, G., Brunetti, A. and Di Giancamillo, M. (2023). Imaging techniques in veterinary medicine. Part II: Computed tomography, magnetic resonance imaging, nuclear medicine. *European Journal of Radiology Open* 10, 100467. doi: 10.1016/j.ejro.2022.100467.
- **Gumpenberger, M.** (2017). Diagnostic Imaging of Reproductive Tract Disorders in Reptiles. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice* **20**, 327–343. doi: 10.1016/j.cvex.2016.11.003.

- **Gumpenberger, M.** (2021). Diagnostic Imaging of the Respiratory Tract of the Reptile Patient. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice* **24**, 293–320. doi: 10.1016/j.cvex.2021.01.002.
- Gustavsen, K. A., Saunders, A. B., Young, B. D., Winter, R. L. and Hoppes, S. M. (2014). Echocardiographic and radiographic findings in a cohort of healthy adult green iguanas (Iguana iguana). *Journal of Veterinary Cardiology* **16**, 185–196. doi: 10.1016/j.jvc.2014.05.002.
- Gwiazdowski, F. J., León, J. G. and Jurado, A. M. (2021). Los artefactos más frecuentes en resonancia magnética, tomografía computarizada y ecografía que todos los radiólogos deberían conocer. In Congreso Nacional Sociedad Española de Radiología Médica, .
- Haeckel, E. (1866). Generelle morphologie der organism. Reimer, Berlin.
- Harris, H. S., Benson, S. R., James, M. C., Martin, K. J., Stacy, B. A., Daoust, P. Y., Rist, P. M., Work, T. M.,
  Balazs, G. H. and Seminoff, J. A. (2016). Validation of Ultrasound As A Noninvasive Tool to Measure
  Subcutaneous Fat Depth in Leatherback Sea Turtles (Dermochelys Coriacea). *Journal of Zoo and* Wildlife Medicine 47, 275–279. doi: 10.1638/2015-0023.1.
- Hawkins, J., Basa, R. M., Norton, M. J. and Johnson, K. A. (2022). Morphometric description of the koala humerus using microcomputed tomography. *Scientific Reports* 12, 1–8. doi: 10.1038/s41598-022-22944-0.
- Hayashi, N., Watanabe, Y., Masumoto, T., Mori, H., Aoki, S., Ohtomo, K., Okitsu, O. and Takahashi, T. (2004). Utilization of low-field MR scanners. *Magnetic Resonance in Medical Sciences* **3**, 27–38. doi: 10.2463/mrms.3.27.
- Hecht, S. and Adams, W. H. (2010). MRI of Brain Disease in Veterinary Patients Part 1: Basic Principles and Congenital Brain Disorders. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 40, 21–38. doi: 10.1016/j.cvsm.2009.09.005.
- Hedley, J. (2016). Anatomy and Disorders of the Oral Cavity of Reptiles and Amphibians. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* 19, 689–706. doi: 10.1016/j.cvex.2016.04.002.
- Hernandez-Divers, S. J. (2003). Green iguana nephrology: A review of diagnostic techniques. Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice 6, 233–250. doi: 10.1016/S1094-9194(02)00025-7.
- Hernandez-Divers, S. M. and Garner, M. M. (2003). Neoplasia of reptiles with an emphasis on lizards. Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice 6, 251–273. doi: 10.1016/S1094-9194(02)00028-2.
- Hetterich, J., Schmidt, V., Herth, M., Merhof, K. and Pees, M. (2022). Urothelial carcinoma in a Russian tortoise (Testudo horsfieldii). *Journal of Comparative Pathology* 200, 18–22. doi: 10.1016/j.jcpa.2022.11.001.
- Ho, J. L., Konda, A., Rahman, J., Harris, E., Korn, R., Sabir, A., Bawany, B., Gulati, R., Harris, G. J., Boswell,
  W. D., Fong, Y. and Rahmanuddin, S. (2020). Comparative analysis of three-dimensional volume rendering and maximum intensity projection for preoperative planning in liver cancer. *European Journal of Radiology Open* 7, 100259. doi: 10.1016/j.ejro.2020.100259.
- Holdsworth, D. W. and Thornton, M. M. (2002). Micro-CT in small animal and specimen imaging. *Trends in Biotechnology* 20, 34–39. doi: 10.1016/S0167-7799(02)02004-8.

- Holmes, S. P. and Divers, S. J. (2019a). 53 Radiography—General Principles. In Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery (ed. Divers, S. J. and Stahl, S. J.), pp. 486–490. W.B. Saunders Company doi: https://doi.org/10.1016/C2014-0-03734-3.
- Holmes, S. P. and Divers, S. J. (2019b). Radiography—Chelonians. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, pp. 514–527. doi: https://doi.org/10.1016/C2014-0-03734-3.
- Holmes, S. P. and Divers, S. J. (2019c). Radiography—Lizards. In Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery (ed. Divers, S. J. and Stahl, S. J.), p. 1537. Saunders doi: https://doi.org/10.1016/C2014-0-03734-3.
- Holmes, S. P. and Wyneken, J. (2019). Magnetic Resonance Imaging. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*, pp. 571–585. doi: https://doi.org/10.1016/C2014-0-03734-3.
- Hoops, D., Ullmann, J. F. P., Janke, A. L., Vidal-Garcia, M., Stait-Gardner, T., Dwihapsari, Y., Merkling, T.,
  Price, W. S., Endler, J. A., Whiting, M. J. and Keogh, J. S. (2017). Sexual selection predicts brain structure in dragon lizards. *Journal of Evolutionary Biology* 30, 244–256. doi: 10.1111/jeb.12984.
- Hoops, D., Desfilis, E., Ullmann, J. F. P., Janke, A. L., Stait-Gardner, T., Devenyi, G. A., Price, W. S., Medina, L., Whiting, M. J. and Keogh, J. S. (2018). A 3D MRI-based atlas of a lizard brain. doi: 10.1002/cne.24480.
- Hoops, D., Weng, H., Shahid, A., Skorzewski, P., Janke, A. L., Lerch, J. P. and Sled, J. G. (2021). A fully segmented 3D anatomical atlas of a lizard brain. *Brain Structure and Function* 226, 1727–1741. doi: 10.1007/s00429-021-02282-z.
- Howard E. Evans, A. de L. (2018). *Miller's Anatomy of the Dog*, 4th Edn. ed. Elsevier doi: 10.1007/978-3-319-28845-1\_3860-1.
- Jaber, J. R., Carrascosa, C., Arencibia, A., Corbera, J. A., Ramirez, A. S. and Melian, C. (2018). 3-D computed tomography reconstruction: Another tool to teach anatomy in the veterinary colleges. *Iranian Journal of Veterinary Research* 19, 1–2. doi: 10.22099/ijvr.2018.4759.
- Jackson, O. F. and Fasal, M. D. (1981). Radiology in tortoises, terrapins and turtles as an aid to diagnosis. Journal of Small Animal Practice 22, 705–716. doi: 10.1111/j.1748-5827.1981.tb00574.x.
- Jepson, P. D., Deaville, R., Patterson, I. A. P., Pocknell, A. M., Ross, H. M., Baker, J. R., Howie, F. E., Reid,
  R. J., Colloff, A. and Cunningham, A. A. (2005). Acute and chronic gas bubble lesions in cetaceans
  stranded in the United Kingdom. *Veterinary Pathology* 42, 291–305. doi: 10.1354/vp.42-3-291.
- Jha, D. K., Khera, P., Bhaskar, S. and Garg, M. (2019). Three-Dimensional Volume Rendering: An Underutilized Tool in Neurosurgery. World Neurosurgery 130, 485–492. doi: 10.1016/j.wneu.2019.07.065.
- Jiménez, D. A., Armbrust, L. J., O'Brien, R. T. and Biller, D. S. (2008). Artifacts in digital radiography. *Veterinary Radiology and Ultrasound* **49**, 321–332. doi: 10.1111/j.1740-8261.2008.00374.x.
- Jones, M. E. H., Werneburg, I., Curtis, N., Penrose, R., O'Higgins, P., Fagan, M. J. and Evans, S. E. (2012). The Head and Neck Anatomy of Sea Turtles (Cryptodira: Chelonioidea) and Skull Shape in Testudines. *PLoS ONE* **7**, 352–354. doi: 10.1371/journal.pone.0047852.

Junghanns, M.-E. K., Pees, M., Reese, S. and Tully, T. (2011). Diagnostic imaging of exotic pets: birds,

*small mammals, reptiles.* doi: 10.1111/j.1751-0813.2011.00824.x.

- Kaczmarek, P., Janiszewska, K., Metscher, B. and Rupik, W. (2020). Development of the squamate nasopalatal complex: Detailed 3D analysis of the vomeronasal organ and nasal cavity in the brown anole Anolis sagrei (Squamata: Iguania). *Frontiers in Zoology* **17**, 1–34. doi: 10.1186/s12983-020-00369-7.
- Kafka, U. C. M., Carstens, A., Steenkamp, G. and Symington, H. (2004). Diagnostic value of magnetic resonance imaging and computed tomography for oral masses in dogs. *Journal of the South African Veterinary Association* 75, 163–168. doi: 10.4102/jsava.v75i4.476.
- Kardong, K. V. (2007a). Sistema esquelético: el cráneo. In *Vertebrados: Anatomía comparada, función y evolución.*, p. McGraw Hill Interamericana.
- Kardong, K. V. (2007b). Órganos de los sentidos. In *Vertebrados: Anatomía comparada, función y evolución.*, p. 800. McGraw Hill Interamericana.
- Kari D., F., Keller, K. A., Kehoe, S. P. and Sutton, B. P. (2022). Establishing an MRI-Based Protocol and Atlas of the Bearded Dragon (Pogona vitticeps) Brain. *Frontiers in Veterinary Science* 9, 1–7. doi: 10.3389/fvets.2022.886333.
- Keller, K. A. (2021). Turtles and Tortoises. In *Exotic Animal Emergency and Critical Care Medicine* (ed. Graham, J. E., Doss, G. A., and Beaufrère, H.), p. Wiley-Blackwell.
- Kier, E. L., Conlogue, G. J. and VanHouten, J. N. (2023). Cerebral arterial and ventricular morphology of the dogfish (Squalus acanthias), American bullfrog (Rana catesbeiana), and green iguana (Iguana iguana): Arterial high-resolution micro-CT, dissection, and radiography study. *Anatomical Record* 306, 2015–2029. doi: 10.1002/ar.25028.
- Kik, M. J. L. and Mitchell, M. A. (2005). Reptile cardiology: A review of anatomy and physiology, diagnostic approaches, and clinical disease. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 14, 52–60. doi: 10.1053/j.saep.2005.12.009.
- King, A. M. (2006). Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals. *Veterinary Journal* 171, 408–420. doi: 10.1016/j.tvjl.2004.10.014.
- Klaphake, E. (2010). A fresh look at metabolic bone diseases in reptiles and amphibians. *Veterinary Clinics* of North America Exotic Animal Practice **13**, 375–392. doi: 10.1016/j.cvex.2010.05.007.
- Klein, W., Abe, A. S., Andrade, D. V. and Perry, S. F. (2003). Structure of the Posthepatic Septum and Its Influence on Visceral Topology in the Tegu Lizard, Tupinambis merianae (Teiidae: Reptilia). *Journal* of Morphology 258, 151–157. doi: 10.1002/jmor.10136.
- Knotek, Z., Dorrestein, G. M., Hrdá, A., Tomek, A., Proks, P., Knotková, Z., Jekl, V. and Lewis, W. (2011). Hepatocellular carcinoma in a green iguana - a case study. *Acta Veterinaria Brno* 80, 243–247. doi: 10.2754/avb201180030243.
- Knotek, Z., Simpson, S. and Martelli, P. (2018). Diagnostic imaging. In *Reptile Medicine and Surgery* (ed. Doneley, B., Monks, D., Johnson, R., and Carmel, B.), pp. 471–489. Wiley-Blackwell doi: 10.1016/B0-72-169327-X/50033-X.
- Korner, M., Weber, C. H., Wirth, S., Pfeifer, K.-J., Reiser, M. F. and Treitl, M. (2007). Advances in Digital Radiography: Physical Principles and System Overview. *Radiographics* **27**, 675–686. doi:

10.1057/9781137337849.

- Lafforgue, P. (2006). Pathophysiology and natural history of avascular necrosis of bone. *Joint Bone Spine* 73, 500–507. doi: 10.1016/j.jbspin.2006.01.025.
- LaFuente, J. and Hernández, L. H. (2016). ch | Capitulo 1: Generalidades y conceptos básicos de resonancia magnética. *Técnica de la imagen por resonancia magnética* 9–28.
- Laurenti, J. N. (1768). Specimen Medicum, Exhibens Synopsin Reptilium Emendatam cum Experimentis circa Venena. doi: 10.5962/bhl.title.5108.
- Lauridsen, H., Hansen, K., Wang, T., Agger, P., Andersen, J. L., Knudsen, P. S., Rasmussen, A. S., Uhrenholt, L. and Pedersen, M. (2011). Inside out: Modern imaging techniques to reveal animal anatomy. *PLoS ONE* 6, 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0017879.
- Laurin, M. and Reisz, R. R. (1995). A reevaluation of early amniote phylogeny. *Zoological Journal of the Linnean Society* **113**, 165–223. doi: 10.1111/j.1096-3642.1995.tb00932.x.
- Lebens, M., Länger, B., Günther, P., Fehr, M. and Mathes, K. A. (2016). Textile foreign body in a green iguana (Iguana iguana): Diagnostic imaging for localisation. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde* 158, 759–763. doi: 10.17236/sat00093.
- Ledesma, D. T. and Scarpetta, S. G. (2018). The skull of the gerrhonotine lizard elgaria panamintina (squamata: Anguidae). doi: 10.1371/journal.pone.0199584.
- Lee, S. K., Cho, K. O., Alfajaro, M. M., Lee, J., Yu, D. and Choi, J. (2019). Use of computed tomography and minimum intensity projection in the detection of lobar pneumonia mimicking lung lobe torsion in a dog. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 60, E48–E53. doi: 10.1111/vru.12565.
- Lemm, J. and Alberts, A. C. (2011). Species Accounts. In *Cyclura: Natural History, Husbandry, and Conservation of West Indian Rock Iguanas*, pp. 15–73. Academic Press doi: 10.1016/B978-1-4377-3516-1.10002-0.
- Li, W. J., Chu, Z. G., Zhang, Y., Li, Q., Zheng, Y. N. and Lv, F. J. (2019). Effect of slab thickness on the detection of pulmonary nodules by use of CT maximum and minimum intensity projection. *American Journal of Roentgenology* 213, 562–567. doi: 10.2214/AJR.19.21325.
- Lim, C. K., Kirberger, R. M., Lane, E. P. and Elliott, D. L. (2013). Computed tomography imaging of a leopard tortoise (Geochelone pardalis pardalis) with confirmed pulmonary fibrosis: a case report. *Acta veterinaria Scandinavica* 55, 35. doi: 10.1186/1751-0147-55-35.
- Lima, F. C., Pereira, K. F., Abe, A. S. and Sebben, A. (2014). Osteologia do neurocrânio de Iguana iguana iguana (Squamata: Iguanidae). *Pesquisa Veterinaria Brasileira* 34, 69–73. doi: 10.1590/S0100-736X2014001300013.
- Linnaeus, C. (1758). Systema Naturae per Regna tria Naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis., 10 reforma. Laurentii Salvii, Stockholm.
- Liria-Loza, A. (2016). Programa de ampliación del hábitat reproductor de la tortuga boba (Caretta caretta) en la Macaronesia. In *14 Conferencia Atlántica de Medio Ambiente,* p. Fuerteventura.
- Lista de especies exóticas invasoras preocupantes para la región ultraperiférica de las islas Canarias: Reptiles. *Gobierno de España*.

Lista Roja UICN.

Lorenzo-Bermejo, T. (2018). Fisiopatología del Síndrome Descompresivo En Tortugas Marinas.

- Ludewig, E., Pees, M. and Morgan, J. P. (2012). Clinical Technique: Digital Radiography in Exotic Pets-Important Practical Differences Compared with Traditional Radiography. *Journal of Exotic Pet Medicine* 21, 71–79. doi: 10.1053/j.jepm.2011.11.006.
- Maas, A. (2019). 1 Developing a Successful Herpetological Veterinary Service. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery (Third Edition)* (ed. Divers, S. J. and Stahl, S. J.), pp. 1–7. W.B. Saunders doi: https://doi.org/10.1016/C2014-0-03734-3.
- Madsen, T., Arnal, A., Vittecoq, M., Bernex, F., Abadie, J., Labrut, S., Garcia, D., Faugère, D., Lemberger,
  K., Beckmann, C., Roche, B., Thomas, F. and Ujvari, B. (2017). Cancer Prevalence and Etiology in
  Wild and Captive Animals. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-804310-3.00002-8.
- Mariani, C. L. (2007). The Neurologic Examination and Neurodiagnostic Techniques for Reptiles. Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice 10, 855–891. doi: 10.1016/j.cvex.2007.04.004.
- Mathes, K. A., Schnack, M., Rohn, K. and Fehr, M. (2017). Magnetic resonance imaging measurements of organs within the coelomic cavity of red-eared sliders (Trachemys scripta elegans), yellow-bellied sliders (Trachemys scripta scripta), Coastal plain cooters (Pseudemys concin. American Journal of Veterinary Research 78,. doi: 10.2460/ajvr.78.12.1387.
- Mathes, K. A., Radelof, K., Engelke, E., Rohn, K., Pfarrer, C. and Fehr, M. (2019). Specific anatomy and radiographic illustration of the digestive tract and transit time of two orally administered contrast media in Inland bearded dragons (Pogona vitticeps). doi: 10.1371/journal.pone.0221050.
- Mattoon, J. S. and Bryan, J. N. (2013). The future of imaging in veterinary oncology: Learning from human medicine. Veterinary Journal 197, 541–552. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.05.022.
- Mazrani, W., McHugh, K. and Marsden, P. J. (2007). The radiation burden of radiological investigations. Archives of Disease in Childhood 92, 1127–1131. doi: 10.1136/adc.2006.101782.
- McArthur, S., Wilkinson, R. and Meyer, J. (2004). *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*. Wiley-Blackwell.
- McKenzie, A., Li, T. and Doneley, B. (2022). A comparison of two techniques to identify the sex of the eastern blue-tongue skink (Tiliqua scincoides scincoides). *Australian Veterinary Journal* **100**, 407–413. doi: 10.1111/avj.13170.
- Meban, C. (1978). Functional anatomy of the lungs of the green lizard, Lacerta viridis. *Journal of anatomy* 125, 421–31.
- Mehler, S. J., Rosenstein, D. S. and Patterson, J. S. (2002). Imaging diagnosis Follicular torsion in a green iguana (Iguana iguana) with involvment of the left adrenal gland. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 43, 343–345. doi: 10.1111/j.1740-8261.2002.tb01015.x.
- Melero, A., Verdés, J., Espada, Y., Novellas, R., Encinoso, M. and Martorell, J. (2023). Computed tomography of the coelomic cavity in healthy veiled chameleons (Chamaeleo calyptratus) and panther chameleons (Furcifer pardalis). Open Veterinary Journal 13, 1071–1081. doi:

10.5455/OVJ.2023.v13.i9.2.

- Meyer, J., Richter, B. and Gressl, H. (2013). Bilateral Bronchial Collapse in a Hermann's Tortoise (Testudo hermanni boettgeri). *Journal of Herpetological Medicine and Surgery* 22, 17. doi: 10.5818/1529-9651-22.1-2.17.
- Mitchell, M. A. (2002). Diagnosis and management of reptile orthopedic injuries. Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice 5, 97–114. doi: 10.1016/S1094-9194(03)00048-3.
- Modesto, S. P. (1999). Observations on the structure of the early Permian reptile Stereosternum tumidum cope. *Palaeontologia Africana* **19**, 7–19.
- Modesto, S. P. and Anderson, J. S. (2004). The phylogenetic definition of reptilia. *Systematic Biology* 53, 815–821. doi: 10.1080/10635150490503026.
- Moore, M. J. and Early, G. A. (2004). Cumulative sperm whale bone damage and the bends. *Science* **306**, 2215. doi: 10.1126/science.1105452.
- Moore, M. J., Bogomolni, A. L., Dennison, S. E., Early, G., Garner, M. M., Hayward, B. A., Lentell, B. J. and Rotstein, D. S. (2009). Gas bubbles in seals, dolphins, and porpoises entangled and drowned at depth in gillnets. *Veterinary Pathology* 46, 536–547. doi: 10.1354/vp.08-VP-0065-M-FL.
- Muramoto, C., Cardoso-Brito, V., Raposo, A. C., Pires, T. T. and Oriá, A. P. (2020). Ocular ultrasonography of sea turtles. *Acta Veterinaria Scandinavica* **62**, 1–8. doi: 10.1186/s13028-020-00551-1.
- Music, M. K. and Strunk, A. (2016). Reptile Critical Care and Common Emergencies. Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice 19, 591–612. doi: 10.1016/j.cvex.2016.01.009.
- Newman, P. G. and Rozycki, G. S. (1998). The history of ultrasound. *Surgical Clinics of North America* **78**, 179–195. doi: 10.1016/S0039-6109(05)70308-X.
- O'Malley, B. (2018). Anatomy and Physiology of Reptiles. In *Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice* (ed. Doneley, B., Monks, D., Johnson, R., and Carmel, B.), pp. 15–32. John Wiley & Sons, Inc.
- Ollonen, J., Da Silva, F. O., Mahlow, K. and Di-Poï, N. (2018). Skull development, ossification pattern, and adult shape in the emerging lizard model organism Pogona vitticeps: A comparative analysis with other squamates. *Frontiers in Physiology* **9**, 1–26. doi: 10.3389/fphys.2018.00278.
- Orti, R. M., Garcia, P. M. and Soriano, J. G. (2004). Atlas de anatomia de animales exoticos. Elsevier -Masson.
- **Osborn, A. P.** (1942). The American Museum of Natural History. *Science* **95**, 558. doi: 10.1126/science.95.2474.558.
- Owen, R. (1854). The principle forms of the skeleton and of the teeth. Blanchard and Lea., Philadelphia.
- Pack, J. D., Xu, M., Wang, G., Baskaran, L., Min, J. and De Man, B. (2022). Cardiac CT blooming artifacts: clinical significance, root causes and potential solutions. *Visual Computing for Industry, Biomedicine,* and Art 5,. doi: 10.1186/s42492-022-00125-0.
- Paluh, D. J. and Bauer, A. M. (2017). Comparative skull anatomy of terrestrial and crevice-dwelling Trachylepis skinks (Squamata: Scincidae) with a survey of resources in scincid cranial osteology. doi: 10.1371/journal.pone.0184414.
- Paparella, I. and Caldwell, M. W. (2022). Cranial anatomy of the Galápagos marine iguana Amblyrhynchus

cristatus (Squamata: Iguanidae). Anatomical Record 305, 1739–1786. doi: 10.1002/ar.24797.

- Pasachnik, S. A. and Carreras De León, R. (2019). Cyclura cornuta, hispaniolan Rhinoceros Iguana. The IUCN Red List of Threatened Species 8235, 1–6. doi: http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-2.RLTS.T6042A3099941.en.
- Pease, A., Blanvillain, G., Rostal, D., Owens, D. and Segars, A. (2010). Ultrasound imaging of the inguinal region of adult male loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 41, 69–76. doi: 10.1638/2009-0109.1.
- Pees, M. C., Kiefer, I., Ludewig, E. W., Schumacher, J. P. and Oechtering, G. U. (2007). Computed Tomography of the Lungs of Indian pythons (Python molurus). *American Journal of Veterinary Research* 68,.
- Pees, M., Kiefer, I., Thielebein, J., Oechtering, G. and Krautwald-Junghanns, M. E. (2009). Computed tomography of the lung of healthy snakes of the species python regius, boa constrictor, python reticulatus, morelia viridis, epicrates cenchria, and morelia spilota. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 50, 487–491. doi: 10.1111/j.1740-8261.2009.01569.x.
- Pees, M., Ludewig, E., Plenz, B. and Schmidt, V. (2015). Imaging diagnosis Seminoma causing liver compression in a spur-thighed tortoise (Testudo Graeca). *Veterinary Radiology and Ultrasound* 56, E21–E24. doi: 10.1111/vru.12145.
- Pérez, S., Encinoso, M., Corbera, J. A., Morales, M., Arencibia, A., González-rodríguez, E., Déniz, S., Melián, C., Suárez-bonnet, A. and Jaber, J. R. (2021a). Cranial structure of varanus komodoensis as revealed by computed-tomographic imaging. *Animals* 11,. doi: 10.3390/ani11041078.
- Pérez, S., Encinoso, M., Morales, M., Arencibia, A., Suárez-Bonnet, A., González-Rodríguez, E. and Jaber,
  J. R. (2021b). Comparative evaluation of the Komodo Dragon (Varanus Komodoensis) and the green
  Iguana (Iguana Iguana) skull by three-dimensional computed tomographic reconstruction. *Slovenian Veterinary Research* 58, 111–116. doi: 10.26873/SVR-1330-2021.
- Pincheira-Donoso, D., Bauer, A. M., Meiri, S. and Uetz, P. (2013). Global Taxonomic Diversity of Living Reptiles. *PLoS ONE* 8, 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0059741.
- Porter, W. R. and Witmer, L. M. (2015). Vascular patterns in iguanas and other squamates: Blood vessels and sites of thermal exchange. *PLoS ONE* 10, 1–27. doi: 10.1371/journal.pone.0139215.
- Prades, R. B., Lastica, E. A. and Acorda, J. A. (2013a). Ultrasound features of the kidneys, urinary bladder, ovarian follicles and vaginal sacs of female water monitor lizard (Varanus marmoratus, Weigmann, 1834). Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences **39**, 115–124.
- Prades, R. B., Lastica, E. A. and Acorda, J. A. (2013b). Ultrasonography of the urogenital organs of male water monitor lizard (Varanus marmoratus, Weigmann, 1834). *Philipp J Vet Anim Sci* 39, 247–258.
- Prasad, M., Ghosh, M., Suman, Patki, H. S., Kumar, S., Brar, B., Sindhu, N., Goel, P., Kaushik, S., Mohan,
  H., Syed, S. and Kumar, R. (2021). Imaging Techniques in Veterinary Disease Diagnosis. In Advances in Animal Disease Diagnosis (ed. Gahlawat, S. K. and Maan, S.), pp. 103–146. CRC Press, Boca Raton,
  FL 33487- 2742.
- Rachit K, S. and Sumitra, S. (2008). Comparative Anatomy of Vertebrates, 1st Edn. Anshan, 6 Newlands

Road, Tunbridge Wells, Kent TN4 9AT UK.

**REDEXOS** Gobierno de Canarias.

- Ricciardi, M., Franchini, D., Valastro, C., Ciccarelli, S., Caprio, F., Eyad Assad, A. and Di Bello, A. (2019). Multidetector Computed Tomographic Anatomy of the Lungs in the Loggerhead Sea Turtle (Caretta caretta). *Anatomical Record* **302**, 1658–1665. doi: 10.1002/ar.24030.
- Rivera, S. (2008). Health Assessment of the Reptilian Reproductive Tract. *Journal of Exotic Pet Medicine* 17, 259–266. doi: 10.1053/j.jepm.2008.07.003.
- Robeck, T. R., Rostal, D. C., Burchfield, P. M., Owens, D. W. and Kraemer, D. C. (1990). Ultrasound imaging of reproductive organs and eggs in Galapagos tortoises, Geochelone elephantopus spp. *Zoo Biology* 9, 349–359. doi: 10.1002/zoo.1430090503.
- Rostal, D. C., Robeck, T. R., Owens, D. W. and Kraemer, D. C. (1990). Ultrasound imagine of ovaries and eggs in Kemp's ridley sea turtles (Lepidochelys kempi). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 21, 27– 35.
- Ruggiero, M. A., Gordon, D. P., Orrell, T. M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R. C., Cavalier-Smith, T., Guiry, M. D. and Kirk, P. M. (2015). A higher level classification of all living organisms. *PLoS ONE* 10, 1–60. doi: 10.1371/journal.pone.0119248.
- Saber, A. and Kamal, B. (2010). Computed Tomography and 3D Reconstruction of the Respiratory Organs of the Egyptian Tortoise (Testudo kleinmanni). *Journal of Veterinary Anatomy* 3, 1–15. doi: 10.21608/jva.2010.44902.
- Saidman, J. M., Falconi, M., A., D. P. D., G.-V., M. J., G. E. and Ulla, M. (2022). Utilidad de la tomografía computarizada multicorte para la estimación de la composición del derrame pericárdico. *Revista Argentina de Radiología* 86, 199–210.
- Sainsbury, A. W. and Gili, C. (1991). Ultrasonographic Anatomy and Scanning Technique of the Coelomic Organs of the Bosc Monitor (Varanus exanthematicus). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 22, 421–433.
- Sartori, P., Rozowykniat, M., Siviero, L., Barba, G., Peña, A., Mayol, N., Acosta, D., Castro, J. and Ortiz,
  A. (2015). Artefactos y artificios frecuentes en tomografía computada y resonancia magnética.
  *Revista Argentina de Radiología* 79, 192–204. doi: 10.1016/j.rard.2015.04.005.
- Saunders, J. and Ohlerth, S. (2011). CT Physics and Instrumentation Mechanical Design 1. In *Veterinary Computed Tomography* (ed. Schwarz, T. and Saunders, J.), p. 576. Wiley-Blackwell.
- Scatliff, J. H. and Morris, P. J. (2014). From Roentgen to magnetic resonance imaging: the history of medical imaging. North Carolina medical journal 75, 111–113. doi: 10.18043/ncm.75.2.111.
- Schachner, E. R., Hedrick, B. P., Richbourg, H. A., Hutchinson, J. R. and Farmer, C. G. (2021). Anatomy, ontogeny, and evolution of the archosaurian respiratory system: A case study on Alligator mississippiensis and Struthio camelus. *Journal of Anatomy* 238, 845–873. doi: 10.1111/joa.13358.

Schifino Valente, A. L. (2007). Diagnostic imaging of the Loggerhead sea turtle (Caretta caretta).

Schilliger, L. (2022). Heart Diseases in Reptiles: Diagnosis and Therapy. Veterinary Clinics of North America
 Exotic Animal Practice 25, 383–407. doi: 10.1016/j.cvex.2022.01.003.

- Schmidt, L., Di Girolamo, N. and Selleri, P. (2020). Diagnostic Imaging of the Reptile Urinary System. Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice 23, 131–149. doi: 10.1016/j.cvex.2019.08.007.
- Schoch, R. R. and Sues, H. D. (2015). A Middle Triassic stem-turtle and the evolution of the turtle body plan. *Nature* 523, 584–587. doi: 10.1038/nature14472.
- Schumacher, J. (1997). Respiratory diseases of reptiles. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 6, 209–215. doi: 10.1016/s1055-937x(97)80007-2.
- Schumacher, J. (2003). Reptile respiratory medicine. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* **6**, 213–231. doi: 10.1016/S1094-9194(02)00020-8.
- Schumacher, J. (2011). Respiratory Medicine of Reptiles. *Veterinary Clinics of North America Exotic* Animal Practice 14, 207–224. doi: 10.1016/j.cvex.2011.03.010.
- Schumacher, J. and Toal, R. L. (2001). Advanced radiography and ultrasonography in reptiles. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* **10**, 162–168. doi: 10.1053/saep.2001.24671.
- Secrest, S., Bugbee, A., Waller, K. and Jiménez, D. A. (2017). Comparison of Transverse Computed Tomographic Excretory Urography Images and Maximum Intensity Projection Images for Diagnosing Ectopic Ureters in Dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 58, 163–168. doi: 10.1111/vru.12461.

Seguimiento de la tortuga boba (2023). Observatorio Ambiental Granadilla 1–9.

- Sharma, A. and Wyneken, J. (2019). Computed Tomography. In *Mader's Reptile and Amphibian Medicine* and Surgery, pp. 560–570. doi: https://doi.org/10.1016/C2014-0-03734-3.
- Shellock, F. G. (2018). Reference Manual for Magnetic Resonance Safety, Implants, and Devices, 2018th Edn.
- Silverman, S. (1993). Diagnostic imaging of exotic pets. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice* 23, 1287–1299. doi: 10.1016/S0195-5616(93)50156-0.
- Silverman, S. (2006). Diagnostic imaging. In *Reptile Medicine and Surgery* (ed. Mader, D. R.), pp. 471–489. W.B. Saunders doi: https://doi.org/10.1016/B0-72-169327-X/50033-X.
- Sobral, G., Reisz, R., Neenan, J. M., Müller, J. and Scheyer, T. M. (2016). Basal Reptilians, Marine Diapsids, and Turtles: The Flowering of Reptile Diversity. doi: 10.1007/978-3-319-46661-3\_8.
- Spadola, F., Barillaro, G., Morici, M., Nocera, A. and Knotek, Z. (2016). The practical use of computed tomography in evaluation of shell lesions in six loggerhead turtles (Caretta caretta). Veterinarni Medicina 61, 394–398. doi: 10.17221/68/2015-VETMED.
- Sprawls, P. (2001). *Magnetic Resonance Imaging: Principles, Methods, and Techniques*. Medical Physics Publishing, 4513 Vernon Boulevard Madison, WI 53705-4964 doi: 10.1148/radiol.2212012537b.
- Steiner, N., Ludewig, E., Tebrün, W. and Pees, M. (2023). Radiation Dose Reduction in Different Digital Radiography Systems: Impact on Assessment of Defined Bony Structures in Bearded Dragons (Pogona vitticeps). Animals 13,. doi: 10.3390/ani13101613.
- Stouffer, J. R. (2004). History of Ultrasound in Animal Science. *Journal of Ultrasound in Medicine* 23, 577–584. doi: 10.7863/jum.2004.23.5.577.
- Straub, J. and Jurina, K. (2001). Magnetic resonance imaging in chelonians. Seminars in Avian and Exotic

Pet Medicine 10, 181–186. doi: 10.1053/saep.2001.24676.

- Summa, N. M., Risi, E. E., Fusellier, M., Guzman, D. S.-M., Zwingenberger, A. L., Madec, S., Raphaël, C. and Betti, E. R. P. (2014). Magnetic Resonance Imaging and Cross-Sectional Anatomy of the Coelomic Cavity in a Red-Eared Slider (Trachemys scripta elegans) and Yellow-Bellied Sliders (Trachemys scripta scripta). Journal of Herpetological Medicine and Surgery 22, 107. doi: 10.5818/1529-9651-22.3.107.
- Temizsoylu, M. D., Bumin, A., Kaya, M. and Alkan, Z. (2006). Radiographic and ultrasonographic evaluation of the upper urinary tract diseases in dogs: 22 cases. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 50, 1–1. doi: 10.1501/vetfak\_000000062.
- Thrall, D. E. (2018). Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology, 7th Edn. Elsevier.
- Thrall, D. E. and Widmer, W. R. (2018). Radiation Protection and Physics of Diagnostic Radiology. In *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*, pp. 11–31. Elsevier Inc, 3251 Riverport Lane St. Louis, Missouri 63043.
- Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R., Reyes, F. and Hošek, J. (1995). The Reptile Database.
- Uetz, P., Freed, P. and Hošek, J. (2020). The Reptile Database.
- Usategui-Martín, A., Liria-Loza, A., Miller, J. D., Medina-Suárez, M., Jiménez-Bordón, S., Pérez-Mellado,
  V. and Montero, D. (2019). Effects of incubation temperature on hatchling performance and phenotype in loggerhead sea turtle Caretta caretta. *Endangered Species Research* 38, 45–53.
- Valente, A. L., Cuenca, R., Parga, M. L., Lavín, S., Franch, J. and Marco, I. (2006). Cervical and coelomic radiologic features of the loggerhead sea turtle, Caretta caretta. *Canadian Journal of Veterinary Research* 70, 285–290.
- Valente, A. L., Marco, I., Zamora, M. A., Parga, M. L., Lavín, S., Alegre, F. and Cuenca, R. (2007a). Radiographic features of the limbs of juvenile and subadult loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *The Canadian Journal of Veterinary Research* **71**, 305–313.
- Valente, A. L., Parga, M. L., Espada, Y., Lavin, S., Alegre, F., Marco, I. and Cuenca, R. (2007b). Ultrasonographic imaging of loggerhead sea turtles (Caretta caretta). *Veterinary Record* 161, 226– 232. doi: 10.1136/vr.161.7.226.
- Valente, A. L. S., Cuenca, R., Zamora, M., Parga, M. L., Lavin, S., Alegre, F. and Marco, I. (2007c). Computed tomography of the vertebral column and coelomic structures in the normal loggerhead sea turtle (Caretta caretta). *Veterinary Journal* **174**, 362–370. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.08.018.
- Vilaplana Grosso, F. (2019). Orthopedic Diagnostic Imaging in Exotic Pets. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice* 22, 149–173. doi: 10.1016/j.cvex.2019.01.003.
- Waksman Minsky, N. and Saucedo Yáñez, A. (2019). Breve historia de la Resonancia Magnética Nuclear: desde el descubrimiento hasta la aplicación en imagenología. *Educación Química* 30, 129. doi: 10.22201/fq.18708404e.2019.2.68418.
- Wallace, B. P., Lewison, R. L., Mcdonald, S. L., Mcdonald, R. K., Kot, C. Y., Kelez, S., Bjorkland, R. K.,
  Finkbeiner, E. M., Helmbrecht, S. and Crowder, L. B. (2010). Global patterns of marine turtle
  bycatch. *Conservation Letters* 3, 131–142. doi: 10.1111/j.1755-263X.2010.00105.x.

- Werneburg, I. and Maier, W. (2019). Diverging development of akinetic skulls in cryptodire and pleurodire turtles: An ontogenetic and phylogenetic study. *Vertebrate Zoology* 69, 113–143. doi: 10.26049/VZ69-2-2019-01.
- Wilkinson, S. L. (2021). Lizards. In *Exotic Animal Emergency and Critical Care Medicine* (ed. Graham, J. E., Doss, G. A., and Beaufrère, H.), pp. 886–908. Wiley-Blackwell.
- Wilkinson, R., Hernandez-Divers, S., Lafortune, M., Calvert, I., Gumpenberger, M. and McArthur, S. (2004). Diagnostic Imaging Techniques. In *Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles*, pp. 187–238. Blackwell Publishing Ltd, Oxford UK.
- Williams, S. R., Dennison, S., Dunnigan, B., Moore, B., Nicholson, J., Zagzebski, K., Ketten, D., Cramer, S. and Arruda, J. (2013). Diagnosis and management of intestinal partial obstruction in a loggerhead turtle (Caretta Caretta). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 44, 457–461. doi: 10.1638/2011-0179R1.1.
- Williams, C. J. A., Greunz, E. M., Ringgaard, S., Hansen, K., Bertelsen, M. F. and Wang, T. (2019). Magnetic resonance imaging (MRI) reveals high cardiac ejection fractions in red-footed tortoises (Chelonoidis carbonarius). *Journal of Experimental Biology* 222, 1–6. doi: 10.1242/jeb.206714.
- Wyneken, J. (2001). Skeletal Anatomy The Anatomy of Sea Turtles. NOAA Technical Memorandum.
- Wyneken, J. (2005). Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging Anatomy of Reptiles. In Reptile Medicine and Surgery, pp. 1088–1096. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B0-72-169327-X/50090-0.
- Wyneken, J. (2007). Reptilian Neurology: Anatomy and Function. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice* **10**, 837–853. doi: 10.1016/j.cvex.2007.05.004.
- Yamaguchi, Y., Kitayama, C., Tanaka, S., Kondo, S., Miyazaki, A., Okamoto, K., Yanagawa, M. and Kondoh, D. (2021). Computed tomographic analysis of internal structures within the nasal cavities of green, loggerhead and leatherback sea turtles. *Anatomical Record* 304, 584–590. doi: 10.1002/ar.24469.
- Zehtabvar, O., Tootian, Z., Vajhi, A., Shojaei, B., Rostami, A., Davudypoor, S., Sadeghinezhad, J., Ghaffari, H. and Memarian, I. (2014). Computed Tomographic Anatomy and Topography of the Lower Respiratory System of the European Pond Turtle (Emys orbicularis). *Ijvs* 9, 2–9.
- Zimmerman, D. M., Douglass, M., Sutherland-Smith, M., Aguilar, R., Schaftenaar, W. and Shores, A. (2009). Compressive Myelopathy of the Cervical Spine in Komodo Dragons (Varanus komodoensis). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **40**, 207–210.
- Zufiría, L. O. and Martínez, J. L. (2007). Monografía SERAM: Aprendiendo los fundamentos de la resonancia magnética (Oleaga / La Fuente ). Editorial Médica Panamericana S.A.



Article

# Anatomical Description of Loggerhead Turtle (*Caretta caretta*) and Green Iguana (*Iguana iguana*) Skull by Three-Dimensional Computed Tomography Reconstruction and Maximum Intensity Projection Images

Jose Raduan Jaber Mohamad <sup>1,\*</sup>, Eligia González-Rodríguez <sup>2</sup>, Alberto Arencibia <sup>1</sup>, Soraya Déniz <sup>2</sup>, Conrado Carrascosa <sup>1</sup>, and Mario Encinoso <sup>2</sup>

- <sup>1</sup> Department of Morphology, Veterinary Faculty, University of Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35413 Las Palmas, Spain
- <sup>2</sup> Veterinary Teaching Hospital, University of Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35413 Las Palmas, Spain
- Correspondence: joseraduan.jaber@ulpgc.es

check for updates

Citation: Mohamad, J.R.J.; González-Rodríguez, E.; Arencibia, A.; Déniz, S.; Carrascosa, C.; Encinoso, M. Anatomical Description of Loggerbead Turtle (*Caretta caretta*) and Green Iguana (*Iguana iguana*) Skull by Three-Dimensional Computed Tomography Reconstruction and Maximum Intensity Projection Images. Animals 2023, 13, 621. https://doi.org/ 10.3390/ani13040621

Academic Editors: Matilde Lombardero and Mar Yllera Fernández

Received: 29 December 2022 Revised: 30 January 2023 Accepted: 4 February 2023 Published: 10 February 2023



Copyright © 2023 by the authors. Licensee MDPL, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https:// creativecommons.org/licenses/by/ 4.0/). Simple Summary: Due to the growing interest in reptiles and the fact that variation in reptile skull anatomy remains poorly documented, we compared the heads of two reptile species using computed tomography reconstructive procedures, such as maximum intensity projections (MIP) and volume rendering (VR). The resulting images demonstrated that these procedures are suitable for performing comparative anatomical studies as they provide adequate information about the different bones that comprise the head while avoiding the overlapping of other structures. A detailed description of the morphology of the head and associated structures could expand the knowledge of clinicians for the diagnosis of traumatic lesions with small or large fractures, skull malformations, and osteodystrophy secondary to nutrition imbalances or neoplasms.

Abstract: The growing interest in reptiles has posed a challenge to veterinary clinicians due to the lack of a standardized system to perform anatomical studies similar to those used for dogs and cats. In this paper, we have attempted to describe, employing computed tomography and subsequent threedimensional reconstructions, the normal anatomical features that comprise the skulls of two species of reptiles: the loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and the green iguana (*Iguana iguana*). Computed tomography (CT) and subsequent image processing allowed the identification of the bony structures that comprise the head of these species. As a result, and based on previous articles, we propose the most significant anatomical differences and similarities between these species.

Keywords: computed tomography; maximum intensity projection; volume rendering; reptiles; anatomy; skull; lizard; turtle

#### 1. Introduction

Modern diagnostic imaging techniques allow for the creation of three-dimensional representations that can be of considerable value in the dissemination of clinical diagnoses and anatomical studies [1]. Thus, the development of such advanced imaging technologies has improved the quality of anatomical imaging, which enables better evaluation and treatment of different animal diseases.

Therefore, these imaging modalities provide highly reliable diagnostic images that have enabled advancements in the fields of both human and veterinary medicine by reconstructing axial images [2,3]. *Reconstruction* is widely misused as it refers to a very specific procedure that converts the raw data into an axial image, however, *reformatting* displays the images produced from the original reconstruction process in a different orientation than

Animals 2023, 13, 621. https://doi.org/10.3390/ani13040621

https://www.mdpi.com/journal/animals

MDPI

214

that which was initially produced [4]. Among these, we highlight multiplanar reconstructions (MPR), maximum and minimum-intensity projections (MIP and MinIP), and volume rendering (VR) [5–9].

MPR produces a reconstruction along the three axes of space. The X-axis constitutes the right-to-left view, the Y-axis corresponds to the craniocaudal view, whereas the Z-axis is the dorsoventral view of the patient under study, resulting in sagittal and coronal views from cross-sectional images [6].

The most commonly used approaches are the MIP and MinIP. MIP is a procedure that uses only the maximum relative value detected along the ray trajectories retained by the computer, showing preferentially osseous structures and high-contrast regions, while other structures of lower attenuation are not well visualized. Due to its ability to retain attenuation information despite thresholds, it is adequate for the identification of simple structures. Nevertheless, it is conditioned by the poor differentiation of overlapping structures, pulse motion artifact, and breathing [7]. On the other hand, the MinIP detects the minimum values along the ray paths in each view, showing better image quality in those structures with low attenuation [8]. In the literature, these techniques have been reported in human medicine to diagnose different disorders, especially neoplastic diseases [10]. In contrast, only a few articles in veterinary medicine have used these imaging procedures [11,12], although this is expected to increase as they are very useful for the visualization of internal structures [13,14].

Another tool is volume rendering (VR), where the voxels that comprise the image can be programmed to be visible or not, to have different colors, and also to have different levels of opacity, which is called "transparency". VR additionally provides a very useful tool: "spherical clipping volume" or "shutter tool", which establishes borderlines between voxels that need to remain visible (tissues inside the sphere) and voxels that need to remain invisible (all adjacent structures). Therefore, the volume data can be resampled based on a series of software algorithms, and manually edited to depict the region of interest from surrounding structures. This procedure has been applied in both human and veterinary medicine, as it is a valuable tool, e.g., for surgical planning [15] and the anatomical study of many species, allowing an acute visualization of bone and soft structures [9].

Reptiles have gained increasing interest in veterinary medicine. It has motivated veterinary clinicians to understand physiology and anatomy to improve diagnostics. However, to the authors' knowledge, most of the studies performed on these species have been conducted using dedicated micro-CT scanners, and only a few descriptions have been reported using conventional CT equipment, highlighting those carried out on different species of reptiles, such as the Komodo dragon, the loggerhead turtle, the common tegu, the green iguana, the boa constrictor, and the bearded dragon [16–22]. Therefore, this paper aims to provide further insight into the comparative anatomical study of the heads of the green iguana and the loggerhead turtle using conventional CT equipment and 3-D reconstructed images.

#### 2. Materials and Methods

# 2.1. Animals

In this study, we studied five adult female loggerhead turtles (*Caretta caretta*), which weighed between 82 and 106 kg and had a carapace length ranging between 78 and 101 cm. This data was essential for confirming that they were adult specimens. Additionally, we included four adult male green iguanas (*Iguana iguana*), which weighed between 3.8 and 4.1 kg and had a length from snout-to-vent ranging between 28 and 45 cm. All these carcasses were collected from the Rancho Texas Lanzarote Park (Lanzarote, Spain). The animals were scanned at the Veterinary Hospital of Las Palmas de Gran Canaria University. No pathological findings were observed during the clinical examination of the head. We performed anatomical measurements of the skulls of both species (Figure 1) Therefore, we measured three head characters: head length (HL), from the tip of the snout to the posterior border of the collar, head width (HW) at the widest point of the head, and head height

(HH) at the highest point of the head. In the loggerhead turtle's head, the HL mean was 11.03  $\pm$  2.1 cm, the HW mean was 7.94  $\pm$  1.02 cm, and the HH mean was 5.29  $\pm$  0.7 cm. Whereas in the green iguana head, the HL mean was 8.08  $\pm$  0.28 cm, the HW mean was 6.83  $\pm$  0.09 cm, and the HH mean was 4.89  $\pm$  0.07 cm.



Figure 1. Measurements of the loggerhead turtle and green iguana Head. (A) Example of HH in a loggerhead turtle lateral VR image. (B,C) Examples of HL and HW in loggerhead dorsal VR images. (D) Example of HH in a green iguana lateral VR image. (E,F) Examples of HL and HW in green iguana dorsal VR images.

#### 2.2. CT Technique

Transverse CT images were obtained using a 16–slice helical CT scanner (Toshiba Astelion, Toshiba Medical System, Tokyo, Japan). The reptiles were placed symmetrically in ventral recumbency on the CT couch. A standard clinical protocol (120 kVp, 80 mA,  $512 \times 512$  acquisition matrix,  $1809 \times 858$  field of view, a spiral pitch factor of 0.94, and a gantry rotation of 1.5 s) was used to obtain sequential transverse CT images (1 mm thickness). The original transverse data were recorded and transferred to the CT workstation. No CT density or anatomic variations were detected in the heads of the reptiles used in the investigation. In this study, we applied two CT windows by adjusting the window widths (WW) and window levels (WL) to appreciate the CT appearance of the head structures: a bone window setting (WW = 1500; WL = 300) and a soft tissue window setting (WW = 350; WL = 40). The original data were used to generate head VR and MIP reconstructed images after manual editing of the transverse CT images to remove soft tissues using a standard Dicom 3D format (OsiriX MD, Geneva, Switzerland).

#### 3. Results

Different rostral, lateral, ventral, dorsal, and caudal VR and MIP images were obtained for better visualization and description of the different bones comprising the head (dermatocranium, neurocranium, and mandibula) of the turtle and the iguana (Figures 2–11). We selected images that better matched each other, providing valuable information.



Figure 2. Head of *Caretta caretta*. (A) Rostral VR image. (B) Rostrotransversal MIP image. Pmx: Premaxillary bone. PrF: Prefrontal bone. F: Frontal bone. Po: Postorbital bone. O: Orbit. Of: Orbital fossa. J: Jugal bone. QJ: Quadratojugal. Mx: Maxillary bone. SO: Scleral ossifications. P: Parietal bone. EPt: Epipterygoid bone. V: Vomer. Pa: Palatine bone. Ns: Nasal sinuses. Oc: Oral cavity. D: Dentary. San: Surangular.



Figure 3. Head of *Caretta caretta*. (A) Lateral VR image. (B) Medial MIP image. Pmx: Premaxillary bone. Mx: Maxillary bone. PrF. Prefrontal bone. F: Frontal. Po: Postorbital. J: Jugal. SO: Scleral ossifications. QJ: Quadratojugal. Q: Quadrate. Sq: Squamosal. Boc: Basioccipital. Pt: Pterygoid. EPt: Epipterygoid. Pa: Palatine. P: Parietal. Soc: Supraoccipital. Pro: Prootic. C: Coronoid. O: Orbit. Of: Orbital fossa. D: Dentary. A: Angular. San: Surangular. Part: Prearticular. Art: Articular. Ha: Hyoid apparatus. C1: First cervical vertebra. C2: Second cervical vertebra.



Figure 4. Head of *Caretta caretta*. (A) Ventral VR image. (B) Ventral MIP image. Pmx: Premaxillary bone. Mx: Maxillary bone. J: Jugal. V: Vomer. Pa: Palatine. PtP: Pterygoid palatine process. BPt: Basipterygoid. Pt: Pterygoid. PtQ: Pterygoid quadrate process. SO: Scleral ossifications. Sq: Squamosal. Q: Quadrate. QJ: Quadratojugal. Bsp: Basisphenoid. AP: Articular process of Bsp. Boc: Basioccipital. Soc: Supraoccipital. Exoc: Exoccipital. M: Mandible. D: Dentary. A: Angular. Ha: Hyoid apparatus. C1: First cervical vertebra. C2: Second cervical vertebra.

#### 3.1. Dermatocranium

# 3.1.1. PREMAXILLA (Os Premaxillare)

The premaxillary bones are narrow, showing a V shape. These bones are the most rostral bony structures of the turtle head (Figures 2A, 3, 4 and 5A) and caudoventrally with the anterior end of the vomer (Figure 4)). Its rostral VR image showed the absence of dorsomedial processes in these bones, allowing the joining of the nostrils (*nares*) at the midline. This paired bone articulates laterally with the maxillary bone (Figures 2A, 3, 4 and 5A) and caudoventrally with the anterior end of the vomer (Figure 4). We distinguished a similar configuration in the iguana, where it comprises a tooth-bearing alveolar plate. This bone contacts the nasal bone dorsally (Figures 7, 8 and 10), the maxilla caudolaterally (Figures 7, 8 and 10), and the vomer caudomedially (Figure 10B).

# 3.1.2. MAXILLA (Os Maxillare)

The maxilla is a pair of bones that meet each other at the midline under the palatal bones. Therefore, it is located along the lateral edge of the vomer and palatine bones, surrounding the ventral border of the eye orbit (Figure 2). In the rostral and lateral MIP images of the loggerhead turtle (Figures 2B and 3B), this bone meets rostromedially with the premaxillary bone, ventromedially with the vomer and palatine bones, and caudally along the ventral border of the jugal bone (Figures 2 and 3A). Concerning the iguana, this bone arises lateral and ventral to the nasal bone on each side of the skull, contacting it



rostrally with the premaxilla (Figures 7 and 8), the lacrimal and nasal bones dorsally, and the jugal caudolaterally (Figure 8).

Figure 5. Head of *Caretta caretta*. (A) Dorsal VR image. (B) Dorsal MIP. Pmx: Premaxillary bone. Mx: Maxillary bone. nar: Nares. PrF: Prefrontal. F: Frontal. Po: Postorbital. J: Jugal. O: Orbit. SO: Scleral ossifications. Sq: Squamosal. Pt: Pterygoid. Bsp: Basisphenoid. P: Parietal. Exoc: Exoccipital. Soc: Supraoccipital. Ha: Hyoid apparatus. C1: First cervical vertebra. C2: Second cervical vertebra.



Figure 6. Head of *Caretta caretta*. (A) Caudal VR image. (B) Caudal MIP image. P: Parietal bone. PIP: Procesus inferior parietalis. Po: Postorbital. Sq: Squamosal bone. Soc: Supraoccipital bone. Exoc: Exoccipital bone. Boc: Basioccipital bone. OP: Opisthotic bone. FM: Foramen magnum. PBsp: Parabasisphenoid bone. SO: Scleral ossifications. Q: Quadrate. Art: Articular. Ha: Hyoid apparatus.



Figure 7. Head of Iguana iguana. (A) Rostral VR image. (B) Rotral MIP image. N: Nasal. Pmx: Premaxillary bone. Mx: Maxillary bone. PrF: Prefrontal. F: Frontal. PsF: Postfrontal. Po: Postorbital. J: Jugal. Q: Quadrate. P: Parietal. O: Orbit. Pt: Pterygoid. Ec: Ectopterygoid. Art: Articular. C: Coronoid. D: Dentary. San: Surangular.



Figure 8. Head of Iguana iguana. (A) Lateral VR image. (B) Lateral MIP image. Pmx: Premaxillary. Mx: Maxillary bone. N: Nasal. PrF: Prefrontal. L: Lacrimal. F: Frontal. PsF: Postfrontal. Po: Postorbital. SO: Scleral ossifications. J: Jugal. Q: Quadrate. Sq: Squamosal. Ec: Ectopterygoid. Pt: Pterygoid. EPt: Epipterygoid. Cp: Cultriform process. PBsp: Parabasisphenoid. P: Parietal. St: Supratemporal. D: Dentary. A: Angular. San: Surangular. Art: Articular. C: Coronoid. Ha: Hyoid apparatus. C1: First cervical vertebra. C2: Second cervical vertebra.



Figure 9. Head of *Iguana iguana*. (A) Ventral VR image. (B) Ventral MIP image. (C) Ventral VR image without Hyoid apparatus. D: Dentary bone. An: Angular bone. Art: Articular bone. V Vomer. Pa: Palatine bone. Pt: Pterygoid bone. Ec: Ectopterygoid. PtP: Pterygoid palatine process. PtQ: Pterygoid quadrate process. BPt: Basipterygoid process. PBsp: Parabasisphenoid bone. Cp: Cultriform process. OC: Occipital condyle. Ha: Hyoid apparatus. AP: Alar process.

#### 3.1.3. NASAL (Os Nasale)

In the iguana, the nasal bones are broad and slightly convex dorsally. The VR and MIP images showed the nasal bone junction in the mid-sagittal plane and how the nasal bones were distinctly longer than wide (Figure 8), contacting with the neighboring bones such as the lacrimal bone caudolaterally, the maxilla rostrolaterally, the prefrontal bone caudodorsolaterally, and the frontal bone caudodorsomedially (Figures 7, 8 and 10).

# 3.1.4. VOMER

The vomer is an unpaired laminar bone divided into a dorsal and a ventral portion. This last is roughly rectangular and could be distinguished in ventral VR and MIP reconstructions. The vomer is located in the anteromedial palatal region, separating the two external nostril openings (*Apertura narium externa*). The anterodorsal section of this bone forms part of the floor of the nasal passages (*fossa nasalis*), which is well seen with both VR and MIP ventral reconstructions. In the turtle, this bone contacts rostrally with the premaxilla and the maxilla, laterally with the palatine, and caudally with the pterygoid (Figure 4). Referring to the iguana, the vomer is a paired bone with a triangular shape that articulates with the maxilla (rostrally), the palatine bones (caudally) (Figure 9), and medially with one another. Interestingly, this bone shows little or no contact with the premaxilla and none with the pterygoid bone.

# 3.1.5. PALATINE (Os Palatinum)

The palatine bone overlays the dorsomedial surface of the maxillary bone (Figure 2B). It is a paired laminar bone between the vomer and pterygoid bones. It shows a ventral concave shape that narrows posteriorly, contacting laterally with the jugal bone and medially with the pterygoid bone. The loggerhead turtle and green iguana showed the same configuration, which was easily seen by the VR and MIP ventral reconstructed images (Figures 3B, 4 and 9).



Figure 10. Head of *Iguana iguana*. (A) Dorsal VR view. (B) Dorsal MIP view. Pmx: Premaxillary bone. Mx: Maxilla. N: Nasal. PrF: Prefrontal. F: Frontal. PsF: Postfrontal. Po: Postorbital. J: Jugal. Pt: Pterygoid. Ec: Ectopterygoid. Q: Quadrate. Sq: Squamousal. St: Supratemporal. P: Parietal. Soc: Supraoccipital. Art: Articular. Ha: Hyoid apparatus.

# 3.1.6. PREFRONTAL-FRONTAL

In these species, the frontal bone shows a flat shape and lies in the anterior part of the skull (Figures 2, 3, 5, 7, 8 and 10). The rostral VR turtle reconstruction showed a clear view of the prefrontal and frontal bone junctions (caudomedially). Therefore, the frontal bone contacts the prefrontal bone (rostrally), the postorbital bone (laterally), and the parietal bone (caudally) (Figures 2, 3 and 5). As our animals were adults, we could observe how this bone was excluded from the orbit. The VR and MIP images of the green iguana showed that the prefrontal bone contacts rostromedially with the nasal bone, rostrolaterally with the lacrimal bone (paired small bones located in the lateral region of the orbit observed only in the iguana), and caudomedially with the frontal bone (Figures 7, 8 and 10). The frontal bone is broad and forms a major component of the skull roof, contributing to the dorsal border of the orbit. It meets the prefrontal bone rostrolaterally, the postfrontal bone caudallaterally, and the parietal bone caudally (Figures 7, 8 and 10). Laterally, it is differentiated from the postorbital bone.

# 3.1.7. POSTFRONTAL-POSTORBITAL

The postorbital bone forms part of the temporal arch, and most of the posterior margin of the orbit. This bone contacts dorsocaudally with the parietal bone, anterodorsally with

the prefrontal bone, and ventrally with the jugal bone (Figures 2, 3 and 5), excluding, therefore, the frontal bone from the orbit. It reaches the squamosal caudally (Figures 3A and 5) and contacts the prefrontal bone rostrally (Figures 2A, 3A and 5). Regarding the iguana, those bones were broad and could be well identified in VR and MIP rostral, dorsal, and lateral images as two different bones. The postfrontal bone arises in the caudodorsal part of the orbit and meets the frontal bone (rostromedially), the parietal bone (caudomedially), and the postorbital bone (caudolaterally) (Figures 7, 8 and 10). In contrast, the postorbital bone meets the postfrontal bone dorsally, the squamosal bone caudolaterally, and the jugal bone rostrolaterally (Figures 8 and 10).



Figure 11. Head of Iguana iguana. (A) Caudal VR image without hyoid apparatus. (B) Caudal MIP image. Sc: Occipital sagital crest. Soc: Supraoccipital. P: Parietal. Ot: Otoccipital. FM: Foramen magnum. Pt: Pterygoid. Po: Postorbital. Sq: Squamosal. St: Supratemporal. Boc: Basioccipital. Ppo: Paroccipital process. Pbo: Parabasioccipital process. Fo: Otoccipital facet. An: Angular. Art: Articular. Ha: Hyoid apparatus.

# 3.1.8. PARIETAL (Os Parietale)

The parietal bone in loggerhead turtles is wide and relatively flat. This bone is the largest component of the skull roof (Figure 5A) and is formed by a horizontal dorsal plate comprising part of the temporal skull roof and a vertical ventral plate (*processus inferior parietalis*) parasagittally (Figures 2, 3, 5 and 6). Moreover, this bone separated the cranial cavity (*cavum cranii*) from the temporal fossa (*fossa temporalis*) (observed in caudal VR view). It contacts the postorbital bone (laterorostrally) (Figures 2, 3B and 5), the frontal bone (mid-rostrally) (Figures 2, 3B and 5), the supraoccipital bone (caudally), and the squamosal bone (caudolaterally) (Figures 3B and 5A). Similarly, the parietal bone in the green iguana is a short, plate-shaped bone with a descending portion that forms part of the temporal fossa (Figures 7, 8 and 10). It was clearly seen using both MIP and VR tools. This bone meets the postfrontal bone (rostrolaterally) (Figures 7, 8 and 10), the squamosal and the supratemporal (laterally) (Figure 8), and the supraoccipital (caudomedially) (Figures 10 and 11).

#### 3.1.9. JUGAL (Os Jugale)

The jugal bone is one of the main elements of the zygomatic arch under the orbit in both species, showing an "L" shaped configuration in VR and MIP lateral images. Rostral and lateral VR images were quite useful in distinguishing the arrangement of this bone at the caudoventral border of the orbit. Moreover, the rostral, lateral, and ventral VR and MIP images of the turtle show how this bone contacts dorsocaudally with the postorbital bone, rostrally with the maxilla, and posteriorly with the quadratojugal bone (resulting in the zygomatic arch). In contrast, the jugal bone in the iguana is observed as a curved bone (seen by rostral, lateral, and dorsal VR and MIP images) that runs forward along the orbital border to make contact with the lacrimal (dorsally) and maxillary bones rostrally. Caudodorsally, it angles slightly upwards to meet with the postorbital and the squamosal bones. Ventrally, it contacts the ectopterygoid bone.

#### 3.1.10. QUADRATE (Os Quadratum)

The quadrate is a conch-shaped bone and is part of the craniomandibular joint, forming the *fossa temporalis* in both species. The quadrate bone of the turtle contacts dorsally with squamosal (Figures 3 and 4), rostrally is sutured to the pterygoid by the quadratopterygoid process (Figure 4A), and rostrolaterally to the jugal bone by the quadratojugal bone (Figure 3A). In the iguana, this bone contacts dorsally with the supratemporal and the caudal edge of the squamosal bone (Figures 8 and 10). Ventrally, it reaches the articular bone forming the craniomandibular joint (Figure 8).

#### 3.1.11. QUADRATOJUGAL (Os Quadratojugale)

The quadratojugal bone was only observed in the turtle's head and forms part of the anteroventral border of the cavum tympani and half of the cheek emargination. They are well seen in the lateral VR image. This roughly square bone joins the jugal anteriorly, the postorbital anterodorsally, the squamosal caudodorsally, and the quadrate bone caudally (Figure 3A).

#### 3.1.12. SQUAMOSAL (Os Squamosum)

The squamosal bone is located posterodorsally above the quadrate and the quadratojugal, and both form part of the antrum postoticum, where the quadrate bone comprises the base and the squamosal the roof in these species. This bone, in the turtle, is attached to the caudal region of the quadrate bone (Figure 3A), dorsally joins the parietal bone (Figure 5A), caudomedially contacts with the paraoccipital process of the opisthotic bone (Figure 6), rostrolaterally with the quadratojugal (Figure 3A), and ventrally with the basioccipital bone (Figure 4). In the iguana, the squamosal bone is a roughly L-shaped bone that shares the same configuration as in the turtle and is well visualized using both VR and MIP techniques in lateral (Figure 8), dorsal (Figure 10), or caudal images (Figure 11). Nonetheless, in the iguana, we could distinguish the presence of a large ventral process of the squamosal that is offset from the main axis of the bone.

# 3.1.13. PTERYGOID (Os Pterygoideum)

This flat bone lies between the vomer and palatine bones (rostrally) and the parabasisphenoid (caudally) bones (Figure 4) in the loggerhead turtle, reaching the quadrate bone caudally and the palatine bone rostrally (Figures 3B and 4). Interestingly, this bone is fussed with the turtle. In contrast, the iguana was completely separated (Figure 9B,C). This bone has a dorsal projection called the epipterygoid that contacts the parietal bone (Figures 3B and 8) in both species. Nonetheless, we observed that the iguana showed two rostral projections called ectopterygoid bones (Figures 8 and 9), which contacted rostromedially with the pterygoid palatine process (Figure 9B,C), and laterally, it contacts with the jugal and the maxillary bones (Figures 8 and 10).

#### 3.1.14. EPIPTERYGOID

The epipterygoid bone in the turtle consists of a tubular-shaped bone that extends vertically from the pterygoid bone and contacts the parietal (Figure 3B). A similar configuration was observed in the iguana, where this bone is a thin road that touches dorsally the parietal bone (Figure 8).

#### 3.2. Neurocranium

# 3.2.1. PARABASISPHENOID-BASISPHENOID (Os Basisphenoidale)

The parabasisphenoid is a roughly trapezoidal bone located between the pterygoid (rostrally), and the basioccipital (caudally) bones (Figures 4, 5B, 6, 8 and 9). This bone forms part of the ventral surface of the skull and has two lateral processes that contact the pterygoid bone, called basipterygoid processes, which are short and thick, and well identified in the iguana (Figure 9C). Between these processes, we observe a thin and tubular structure named the cultriform process (Figures 8 and 9), which is well developed compared to other iguana species. This latter also shows two alar processes in the laterocaudal direction (Figure 9B,C).

# 3.2.2. BASIOCCIPITAL (Os Basioccipitale)

The basioccipital bone in the turtle is a rectangular-shaped bone located in the posterior half of the planum basale, contacting the basisphenoid (rostrally) and exoccipital (caudally) bones, forming part of the floor of the *cavum cranii* (Figures 3B, 4 and 6). In the iguana, it roughly reaches the parabasisphenoid and caudally the occipital bone (Figure 11), forming part of the occipital condyle.

# 3.2.3. SUPRAOCCIPITAL (Os Supraoccipitale)

The supraoccipital bone is an unpaired midline element located in the posterodorsal portion of the skull (Figures 3–6, 10 and 11). Both turtles and iguanas have a similar configuration. This bone has a broad contact with the posteromedial margins of the parietals (Figures 3B, 5A, 10 and 11). Posteroventrally, it contacts the opisthotic and otoocipital, forming part of the medial part of the occipital condyle, near the foramen magnum (Figures 6 and 11). These features were observed by VR and MIP reconstructions in the caudal view of both species.

#### 3.2.4. EXOCCIPITAL (Os Exoccipitale)

This bone is a paired bone that lies lateral to the foramen magnum and comprises part of the occipital condyle. Dorsally, it is in contact with the supraoccipital, anterodorsolaterally with the opisthotic bone, and ventromedially with the basioccipital bone (Figures 4A, 5A and 6). The exoccipital forms the posterior border of the metotic fissure. The ossification extends ventrally to the dorsolateral aspect of the occipital condyles, where it joins the basioccipital bone (Figure 4A).

# 3.3. Mandible

In both species, the mandible is very robust and shows two pieces that are fused cranially at the intermandibular symphysis.

#### 3.3.1. DENTARY (Os Dentale)

The dentary bone is the major bone of the mandible in both species. Its lateral surface appears pierced by small foramina, where mandibular nerve branches and blood vessels run. In the iguana, it carries pleurodont teeth. This bone was better visualized in the rostral, lateral, and ventral VR and MIP images. Either in the turtle or the iguana, it joins the coronoid and the surangular caudodorsally (Figures 2–4, 8 and 9), the angular caudoventrally (Figures 3, 4, 8 and 9), and the splenial bone medially.

## 3.3.2. ANGULAR (Os Angulare)

The angular bone is a laminar bone located in the caudal aspect of the mandible from the rostromedial to the caudolateral aspect, forming the ventrocaudal margin of the mandible. This bone was well visualized in the lateral MIP and VR images of these species (Figures 3 and 8). The connections of the angular bone in both species are the dentary bone rostrally, the splenial and prearticular bones dorsomedially, and the articular bone in the caudal direction.

# 3.3.3. SURANGULAR (Os Surangulare)

The surangular is a widely flat bone located below the coronoid along the dorsal border of the mandible and forming most of the caudolateral surface of the mandible. In both species, it is located posteriorly and slightly dorsal to the dentary, connected to the coronoid rostrodorsally, to the angular bone caudoventrally, and to the articular bone medially (Figures 3 and 8).

# 3.3.4. CORONOID (Os Coronoideum)

The coronoid is a broadly triangular bony structure located approximately medial to each branch on the caudodorsal aspect of the mandible. This process is the highest part of the mandible in both species. This bone was better visualized in the lateral MIP view of the iguana than in the turtle, where we could distinguish how the coronoid tends to be slightly higher and more dorsally pointed than in the loggerhead turtle. Both species have the same configuration where the coronoid meets the dentary rostrolaterally, the surangular caudolaterally, the articular caudoventromedially, and the splenial bone ventromedially (Figures 3B, 7 and 8).

#### 3.3.5. PREARTICULAR (Os Prearticulare)

The prearticular bone is a wide, flat lamella overlying a large area of the caudomedial surface of the lower jaw, forming a long, narrow process whose dorsal border constitutes the medial border of the adductor fossa. This bone reaches the coronoid rostrodorsally, the articular bone caudomedially, and the angular ventrally (Figure 3). If the splenial bone is present, this bone is sutured to the rostral edge of the prearticular bone.

# 3.3.6. ARTICULAR (Os Articulare)

The articular bone is an irregularly block-shaped bone found at the caudal edge of the mandible in the turtle and the iguana. It was observed using both VR and MIP techniques (Figures 3 and 6–11) and had the same configuration in both species. Thus, it joins with the surangular laterally and the angular ventrally, forming the retroarticular process, and dorsally with the coronoid bone.

#### 3.3.7. HYOID APPARATUS (Os Hyoideum)

The hyoid apparatus is located in the intermandibular space. It provides support to the tongue, pharynx, as well as floor of the mouth. This apparatus consists of a pentagonal piece, which has three structures: a central (basihyal) structure, an anterior process, and two caudolateral processes (Figures 3A, 4, 5, 6A, 8, 9, 10A and 11).

#### 4. Discussion

In this study, we have used different imaging techniques to evaluate the skulls of two species of reptiles. The results of this investigation have demonstrated that MIP and VR images of the turtle and iguana skulls provided adequate information and understanding of the different bones that comprise the skull. Nonetheless, although a direct comparison between VR and MIP images was not possible, a remarkable correlation in the matched images was obtained. As in other reptiles, the heads of the loggerhead turtle and the green iguana are highly complex structures composed of different bones with significant differences [17,18]. Our results have demonstrated that the imaging reconstruction techniques used in our study were valuable in visualizing these differences. Compared to other studies performed on reptiles, such as the boa constrictors [21], the green iguana, the common tegu, and the bearded dragon that used conventional radiography [22], the acquisition of reconstructed images of the skull reduced the superimposition of the bilateral structures of the snout and the neurocranium, providing better visualization of the configuration of the bones that make up the skull of these species.

MIP is a volume rendering procedure that projects a volume of interest onto a 3-dimensional viewing plane based on high-intensity structures on CT [9]. Thus, the ability of MIP

14 of 16

images to preserve attenuation information makes them widely applicable for visualizing areas of interest or specific anatomic structures. Hence, the images obtained in our study allowed excellent visualization of the external and internal structures that concern the skull of both species. Therefore, we identified specific bones of the dermatocranium as the premaxilla, the maxilla, the nasal, the vomer, and the palatine. In the neurocranium, we distinguished dorsal and lateral bones as the frontal, the parietal, and the different parts of the pterygoid, as well as their configuration and relation with other bones, such as the epipterygoid and the parietal bones. However, we could not identify other head bones, such as the basisphenoid, the supraoccipital, or the dentary, which have already been identified using micro-computed tomography [23]. This specific equipment provides higher spatial resolution and thinner slice thickness than that obtained with conventional CT scanners; therefore, micro-CT scanners provide standard images and three-dimensional renderings of extraordinary quality and a superior level of detail compared with standard CT units [24,25]. Nonetheless, micro-CT units are not usually available in veterinary hospitals because of the limited range of species that can fit into the gantry [26].

Three-dimensional volume rendering (VR) is a powerful imaging tool that reconstructs 2D CT data into a 3D model with high fidelity [9]. The main advantage is that it facilitates a three-dimensional visualization, avoiding the superimposition of surrounding structures and therefore allowing for the identification of internal structures [9,16,19]. The VR images allowed us to see how the head of the loggerhead turtle was wider in the posterior part and narrower before the orbits, and the jaw was robust with a fused symphysis. These features have been associated with greater biting performance than those of other sea turtle species [27]. Despite these findings, the skull of Caretta caretta shares similar features to those of other sea turtles, such as large orbits and a short and blunt rostrum [23,28]. Concerning the orbit, VR and MPI were quite helpful in visualizing how the frontals were excluded from the border of the orbit by the prefrontal bones. A similar finding was identified in other studies using micro-CT [23]. This orbital disposition is not observed in other species of sea turtles, such as the Kemp's ridley. The skull of the iguana is convex with a short preorbital region but a similar V-shaped jaw configuration. Concerning internal bones, VR ventral images allowed the depiction of different configurations of the pterygoid bone in both species. As stated in other studies performed on sea turtles [23,28], the pterygoid bone of the loggerhead turtle shows prominent lateral processes. In contrast, in the iguana, this bone was separated from the bone on the other side. Some authors have reported an age-dependent degree of ossification of the pterygoid bone, especially at the pterygoid-epipterygoid junction, tending to fuse with age [29]. However, with both techniques, we could observe that this fusion did not occur in the iguana. Other valuable structures of the head identified by VR were the scleral ossifications, which have been studied by several researchers as a possible growth marker, although scleral ossicles would not be an alternative for loggerhead sea turtle skeletochronology. However, they could be helpful for other sea turtle species [30]. Additionally, this technique allowed us to ascertain the differences in the quadrate bone in both species. Therefore, VR lateral images served to visualize the relation between other bones and the quadratojugal bone and to confirm the absence of this last bone in the iguana head. Similar findings were also described in other studies [31-33], which confirmed that the presence of quadratojugal is a misinterpretation. In contrast, VR and MIP lateral images were helpful in identifying the adductor fossa in the iguana's head. The presence of this chamber in the iguana has been proposed as indicative of the development of jaw adductor muscles in this species [34].

In conclusion, these two techniques were quite helpful, providing anatomical references for the bone structures that comprise the heads of these species. Compared to the excellent resolution provided by micro-CT, VR combined with MPI provides adequate detail of the bone structures that compose the head. Therefore, the results obtained in this study can be adequate to evaluate numerous processes, such as traumatic lesions with small or large fractures involving the skull that can produce brain damage, skull malformations, and osteodystrophy secondary to nutrient imbalances or neoplasms. Moreover, these two reconstruction techniques can facilitate teaching veterinary anatomy to students by realistically allowing the view of structures without superimposition of other structures, eliminating the difficulties of visualizing the extension of different types of lesions.

Author Contributions: Conceptualization, J.R.J.M., A.A. and M.E.; methodology, M.E. and E.G.-R.; investigation, J.R.J.M., E.G.-R. and M.E.; resources, S.D. and C.C.; writing—original draft preparation, J.R.J.M., E.G.-R., A.A., S.D., C.C. and M.E.; writing—review and editing, J.R.J.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: In loving memory of Alvaro Domingo Rodriguez Garcia. We also thank Marisa Mohamad, Carmen Mingot, Ayesh Mohamad and Jamal Jaber for their support and constructive comments, and Rancho Texas Lanzarote Park (Lanzarote, Canary Islands, Spain) for providing the animals for this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

#### References

- Kuszyk, B.S.; Heath, D.G.; Bliss, D.F.; Fishman, E.K. Skeletal 3-D CT: Advantages of Volume Rendering over Surface Rendering. Skeletal Radiol. 1996, 25, 207–214. [CrossRef] [PubMed]
- Hughes, J.R.; Johnson, V.S.; Genain, M.A. CT Characteristics of Primary Splenic Torsion in Eight Dogs. Vet. Radiol. Ultrasound 2020, 61, 261–268. [CrossRef] [PubMed]
- Rowe, S.P.; Fishman, E.K. Three-Dimensional Computed Tomography Cinematic Rendering of Mandibular Odontogenic Myxofibroma. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. 2019, 128, e122–e125. [CrossRef]
- 4. Dianna, D.; Cody, P. AAPM/RSNA Physics Tutorial for Residents: Topics in CT. Radiographics 2002, 22, 14. [CrossRef]
- Fishman, E.K.; Ney, D.R.; Heath, D.G.; Corl, F.M.; Horton, K.M.; Johnson, P.T. Volume Rendering versus Maximum Intensity Projection in CT Angiography: What Works Best, When, and Why. *Radiographics* 2006, 26, 905–922. [CrossRef] [PubMed]
- Calhoun, P.S.; Kuszyk, B.S.; Heath, D.G.; Carley, J.C.; Fishman, E.K. Three-Dimensional Volume Rendering of Spiral CT Data: Theory and Method. *Radiographics* 1999, 19, 745–764. [CrossRef]
- Prokop, M.; Shin, H.O.; Schanz, A.; Schaefer-Prokop, C.M. Use of Maximum Intensity Projections in CT Angiography: A Basic Review. Radiographics 1997, 17, 433–451. [CrossRef]
- Thrall, D. Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology; Elsevier: St. Louis, MO, USA, 2012; ISBN 9780323482479.
- Ho, J.L.; Konda, A.; Rahman, J.; Harris, E.; Korn, R.; Sabir, A.; Bawany, B.; Gulati, R.; Harris, G.J.; Boswell, W.D.; et al. Comparative Analysis of Three-Dimensional Volume Rendering and Maximum Intensity Projection for Preoperative Planning in Liver Cancer. *Eur. J. Radiol. Open* 2020, 7, 100259. [CrossRef]
- Li, W.J.; Chu, Z.G.; Zhang, Y.; Li, Q.; Zheng, Y.N.; Lv, F.J. Effect of Slab Thickness on the Detection of Pulmonary Nodules by Use of CT Maximum and Minimum Intensity Projection. Am. J. Roentgenol. 2019, 213, 562–567. [CrossRef]
- Bertolini, G.; Rolla, E.C.; Zotti, A.; Caldin, M. Three-Dimensional Multislice Helical Computed Tomography Techniques for Canine Extra-Hepatic Portosystemic Shunt Assessment. Vet. Radiol. Ultrasound 2006, 47, 439–443. [CrossRef]
- Secrest, S.; Bugbee, A.; Waller, K.; Jiménez, D.A. Comparison of Transverse Computed Tomographic Excretory Urography Images and Maximum Intensity Projection Images for Diagnosing Ectopic Ureters in Dogs. Vet. Radiol. Ultrasound 2017, 58, 163–168. [CrossRef] [PubMed]
- Ribas, L.M.; Massad, M.R.R.; Pinto, A.C.B.C.F.; Heng, H.G.; Tremori, T.M.; Reis, S.T.J.; Baroni, C.O.; Massad, E.; Rocha, N.S. Post-Mortem CT vs Necropsy in Feline Medicine. J. Feline Med. Surg. 2020, 22, 1206–1213. [CrossRef] [PubMed]
- Jeong, Y.; Lim, C.; Oh, S.; Jung, J.; Chang, J.; Yoon, J.; Choi, M. Three-Dimensional CT Angiography of the Canine Hepatic Vasculature. J. Vet. Sci. 2008, 9, 407–413. [CrossRef]
- Jha, D.K.; Khera, P.; Bhaskar, S.; Garg, M. Three-Dimensional Volume Rendering: An Underutilized Tool in Neurosurgery. World Neurosurg. 2019, 130, 485–492. [CrossRef] [PubMed]
- Pérez, S.; Encinoso, M.; Corbera, J.A.; Morales, M.; Arencibia, A.; González-Rodríguez, E.; Déniz, S.; Melián, C.; Suárez-Bonnet, A.; Jaber, J.R. Cranial Structure of Varanus komodoensis as Revealed by Computed-Tomographic Imaging. Animals 2021, 11, 1078. [CrossRef] [PubMed]
- Arencibia, A.; Melián, A.; Orós, J. Anatomic Interactive Atlas of the Loggerhead Sea Turtle (Caretta Caretta) Head. Animals 2021, 11, 1–13. [CrossRef]

- Pérez, S.; Encinoso, M.; Morales, M.; Arencibia, A.; Suárez-Bonnet, A.; González-Rodríguez, E.; Jaber, J.R. Comparative evaluation of the Komodo dragon (Varanus komodoensis) and the Green iguana (Iguana iguana) skull by three dimensional computed tomographic reconstruction. Slov. Vet. Res. 2021, 58, 111–116. [CrossRef]
- Hernández Morales, C.; Peloso, P.L.V.; Bolívar García, W.; Daza, J.D. Skull Morphology of the Lizard Ptychoglossus Vallensis (Squamata: Alopoglossidae) With Comments on the Variation Within Gymnophthalmoidea. Anat. Rec. 2019, 302, 1074–1092. [CrossRef]
- Roscito, J.G.; Rodrigues, M.T. Comparative Cranial Osteology of Fossorial Lizards from the Tribe Gymnophthalmini (Squamata, Gymnophthalmidae). J. Morphol. 2010, 271, 1352–1365. [CrossRef]
- Banzato, T.; Russo, E.; Di Toma, A.; Palmisano, G.; Zotti, A. Anatomic imaging of the Boa constrictor head: A comparison between radiography, computed tomography and cadaver anatomy. Am. J. Vet. Res. 2011, 72, 1592–1599. [CrossRef]
- Banzato, T.; Selleri, P.; Veladiano, I.A.; Martin, A.; Zanetti, E.; Zotti, A. Comparative evaluation of the cadaveric, radiographic and computed tomographic anatomy of the heads of green iguana (Iguana iguana), common tegu (Tupinambis merianae) and bearded dragon (Pogona vitticeps). BMC Vet. Res. 2012, 11, 53. [CrossRef] [PubMed]
- Jones, M.E.H.; Werneburg, I.; Curtis, N.; Penrose, R.; O'Higginns, P.; Fagan, M.; Evans, S. The head and neck anatomy of sea turtles (Cryptodira: Chelonioidea) and skull shape in Testudines. *PLoS ONE* 2012, 7, e47852. [CrossRef] [PubMed]
- Sasai, H.; Iwai, H.; Fujita, D.; Seto, E.; Izumi, Y. The use of micro-computed tomography in the diagnosis of dental and oral diseases in rabbits. BMC Vet. Res. 2014, 10, 209. [CrossRef] [PubMed]
- 25. Spoor, F.; Jeffery, N.; Zonneveld, F. Using diagnostic radiology in human evolutionary studies. J. Anat. 2000, 197, 61–76. [CrossRef]
- 26. Capello, V. Disorders of the oral cavity. Vet. Clin. N. Am. Exot. Anim. Pract. 2016, 19, 669–998. [CrossRef]
- Herrel, A.; O'Reilly, J.C.; Richmond, A.M. Evolution of bite performance in turtles. J. Evol. Biol. 2002, 15, 1083–1094. [CrossRef]
  Chatterji, R.M.; Hutchinson, M.N.; Jones, M.E.H. Redescription of the skull of the Australian flatback sea turtle, Natator depressus,
- provides new morphological evidence for phylogenetic relationships among sea turtles (Chelonioidea). Zool. J. Linn. Soc. 2021, 191, 1090–1113. [CrossRef]
- Wernerburg, I.; Maier, W. Diverging Development of Akinetic Skulls in Cryptodire and Pleurodire Turtles: An Ontogenetic and Phylogenetic Study Ingmar. Vertebr. Zool. 2019, 69, 113–143.
- Avens, L.; Taylor, J.C.; Goshe, L.R.; Jones, T.T.; Hastings, M. Use of Skeletochronological Analysis to Estimate the Age of Leatherback Sea Turtles Dermochelys Coriacea in the Western North Atlantic. *Endanger. Species Res.* 2009, 8, 165–177. [CrossRef]
- Abdala, F.; Lobo, F.; Scrocchi, G. Patterns of ossification in the skeleton of Liolaemus quilmes (Iguania: Tropiduridae). Amphibia-Reptilia 1997, 18, 75–83.
- Lions, M.L.; Álvarez, B.B. Desarrollo del esqueleto de Tropidurus etheridgei (Iguania: Tropiduridae). Rev. Esp. Herpetol. 1998, 12, 7–18.
- Evans, S.E. The skull of lizards and tuatara. In *The Skull of Lepidosauria*; Biology of the Reptilia; Gans, C., Ed.; Society for the Study of Amphibians and Reptiles: Ithaca, NY, USA, 2008; Volume 20, pp. 1–347.
- Holliday, C.; Witmer, L.M. Archosaur Adductor Chamber Evolution: Integration of Musculoskeletal and Topological Criteria in Jaw Muscle Homology. J. Morphol. 2007, 268, 457–484. [CrossRef] [PubMed]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.





# Article

# Anatomical Description of Rhinoceros Iguana (*Cyclura cornuta cornuta*) Head by Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging and Gross-Sections

Eligia González Rodríguez <sup>1</sup><sup>(0)</sup>, Mario Encinoso Quintana <sup>1,\*(0)</sup>, Daniel Morales Bordon <sup>2</sup>, José Guerra Garcés <sup>3</sup>, Himar Artiles Nuez <sup>4</sup> and José Raduan Jaber <sup>5,\*</sup>

- <sup>1</sup> Hospital Clínico Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35413 Las Palmas, Spain
- <sup>2</sup> Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35413 Las Palmas, Spain
- 3 Rancho Texas Lanzarote Park, Lanzarote, 35510 Islas Canarias, Spain
- <sup>4</sup> IVC Evidensia Los Tarahales, 35013 Islas Canarias, Spain
- <sup>5</sup> Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35413 Las Palmas, Spain
- Correspondence: mencinoso@gmail.com (M.E.Q.); joseraduan.jaber@ulpgc.es (J.R.J.)

Simple Summary: The rhinoceros iguana (Cyclura cornuta cornuta), like many other iguana species, has become severely endangered as a result of human activities, earning the highest level of protection under the CITES convention for protected species. Moreover, it has been classified as vulnerable by the International Union for Conservation of Nature (IUCN). The rhinoceros iguana belongs to the family Iguanidae and is native to the island of Hispaniola. Since its population has declined, the Canary Island Government has promoted an initiative for its recovery in a completely natural environment. The limited literature regarding the anatomy of this species motivated us to investigate its cranial structures by using modern imaging techniques such as computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) combined with anatomical dissection, to obtain helpful information on the structures that form the rhinoceros iguana's head.

Abstract: In this paper, we attempted to elaborate on an atlas of the head of the rhinoceros iguana, applying modern imaging techniques such as CT and MRI. Furthermore, by combining the images acquired through these techniques with macroscopic anatomical sections, we obtained an adequate description of the relevant structures that form the head of this species. This anatomical information could provide a valuable diagnostic tool for the clinical evaluation of different pathological processes in iguanas such as abscesses and osteodystrophy secondary to nutrient imbalances, skull malformations, fractures, and neoplasia.

Keywords: computed tomography; magnetic resonance imaging; gross-sections; reptiles; anatomy; head; rhinoceros iguana

#### 1. Introduction

The rhinoceros iguana (*Cyclura cornuta cornuta*), belonging to the Iguanidae family, is an endemic species of the island of Hispaniola, in the Caribbean Sea [1]. Its skin has rough epidermal scales, and its greyish-brown or olive coloring camouflages very well with the environment. The name comes from the bony protuberances or pseudo-horns dorsal to the snout. Males have larger body dimensions than females, and their horns are also larger. This iguana has a polygamous mating system and is oviparous (5–20 eggs per clutch), reaching maturity between 5 and 9 years of age [2]. This species is extremely territorial. To intimidate conspecifics or predators, these animals move their heads and

Animals 2023, 13, 955. https://doi.org/10.3390/ani13060955

https://www.mdpi.com/journal/animals

#### check for updates

Citation: González Rodríguez, E.; Encinoso Quintana, M.; Morales Bordon, D.; Garcós, J.G.; Artiles Nuez, H.; Jaber, J.R. Anatomical Description of Rhinoceros Iguana (*Cyclura cornuta cornuta*) Head by Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging and Gross-Sections. *Animals* **2023**, 13, 955. https://doi.org/ 10.3390/anil3060955

Academic Editors: Matilde Lombardero and Mar Yllera Fernández

Received: 21 January 2023 Revised: 2 March 2023 Accepted: 3 March 2023 Published: 7 March 2023



Copyright © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https:// creativecommons.org/licenses/by/ 4.0/). neck, while rotating their bodies. These movements are also used in mating rituals. Like all iguanas, this species is heliothermic, which means it must organize its activities to use solar radiation to regulate its body temperature. This also means that it can only survive in tropical/subtropical climates. Its dict is herbivorous, although it may occasionally feed on insects, land crabs or carrion. Due to human encroachment and destruction of the environment, it has been severely displaced from its habitat (near the coast but with low rainfall). Limestone mining, predation, as well as deforestation by the wood industry and forest fires have forced this species to migrate or even become extinct, as is the case with the closely related subspecies *Cyclura cornuta onchiopsis*, native to Navassa Island [3].

The great interspecific anatomical complexity between mammals and reptiles and the growing interest in reptiles as companion animals present a challenge to veterinary clinicians in diagnostic imaging studies interpretation [4]. Diagnostic imaging has brought a radical change in their clinical practice due to the facility to obtain information on the internal structures of the animal body [5]. Thanks to technological developments in this field, morphological and anatomical information can be obtained in a less invasive and considerably faster way, and this technique has become a fundamental tool for this practice, using conventional radiology [6] and ultrasound [7], as well as more advanced imaging techniques such as CT [8] or MRI [9], which offer certain advantages over conventional ones, such as overlapping structures avoidance, fast image acquisition and high contrast resolution, among others [10,11]. All this has meant that the veterinary clinician has to become acquainted not only with these techniques but also with the anatomy and physiology of reptiles [12].

Some relevant literature on the anatomical, physiological and pathological study of these species is already widely available [8–15]. As far as we know, the anatomy of different reptile species has already been thoroughly described employing diagnostic imaging techniques [13–15]. Authors have reported atlases of green, loggerhead and leatherback sea turtles [15–18], komodo dragons [19,20] and green iguanas [12,15,21,22], snakes and lizards [21]. Concerning the rhinoceros iguana, most of the studies are focused on population genetics [23], evolution and historical biogeography [24], and on some pathologic descriptions such as osteopetrosis-like conditions [25]. However, to the authors' knowledge, none have performed anatomic investigations on the head of the rhinoceros iguana. Therefore, this study aimed to describe the normal anatomy of the head of this species, using CT, MRI and those anatomic sections that are the more informative regions of gross anatomy and can help to understand all the structures that form the head of the rhinoceros iguana. The application of CT, MRI and macroscopic anatomical sections could provide essential information for anatomic descriptions in teaching and clinical practice.

# 2. Materials and Methods

#### 2.1. Animals

Two carcasses of adult female rhinoceros iguanas (*Cyclura cornuta cornuta*) from the zoological park "Rancho Texas Lanzarote Park" (Lanzarote, Canary Islands, Spain) were collected. One female measured 94 cm, and the other was 91 cm long from snout to tail. They weighed 5 and 4.2 kg, respectively. The animals died due to natural causes. No abnormalities were found on physical examination.

# 2.2. Anatomic Evaluation

We performed anatomical gross-sections to facilitate the identification of structures observed in the CT and MRI images. Immediately after the scanning procedures, these specimens were placed in a plastic isolation holder in ventral recumbency and successively stored in a freezer (-80 °C) until completely frozen. Subsequently, the two frozen carcasses were sectioned using an electric band saw to obtain sequential anatomical gross-sections. Contiguous 1 cm transverse slices were obtained starting at the snout and extending to the first cervical vertebra region. These slices were thicker than those for CT and MRI to

preserve integrity and position of the anatomic structures in the sections. These sections were cleaned with water, numbered and photographed on the cranial and caudal surfaces.

Afterwards, we selected those anatomic sections that better matched the CT and MRI images to identify the relevant structures of the rhinoceros iguana head. To help in this process, we also used anatomical texts and relevant references describing this species [4,21,26,27].

#### 2.3. CT Technique

Transverse CT images were obtained at the Veterinary Hospital of Las Palmas de Gran Canaria University using a 16-slice helical CT scanner (Toshiba Astelion, Canon Medical System, Tokyo, Japan). The animals were placed in ventral recumbency as symmetrically as possible on the CT couch. A standard clinical protocol (100 kVp, 80 mA,  $512 \times 512$  acquisition matrix,  $1809 \times 858$  field of view, a spiral pitch factor of 0.94 and a gantry rotation of 1.5 s) was used to obtain sequential transverse CT images (1 mm thickness). The original transverse data were recorded and transferred to the CT workstation. No CT density or anatomic variations were detected in the head of the reptiles used in the investigation. In this study, we applied two CT windows by adjusting the window widths (WW) and window levels (WL) to appreciate the CT appearance of the head structures: a bone window setting (WW = 1500; WL = 300) and a soft tissue window setting (WW = 350; WL = 40). Moreover, dorsal and sagittal multiplanar reconstructed (MPR) images were also obtained to better visualize other iguana head structures.

#### 2.4. MRI Technique

MRI images were obtained with a Canon Vantage Elan 1.5 T equipment, using T1W sequences in a transversal plane (TR: 634 ms, TE: 10, FOV: 1809 × 829, thickness 2 mm, matrix 192 × 160), T2W sequences in a transversal plane (TR: 4769 ms, TE: 120, FOV: 1809 × 829, thickness 2 mm, matrix 192 × 224), T2W sequences in the dorsal plane (TR: 5271 ms, TE: 120, FOV: 1809 × 829, thickness 2.5 mm, matrix 240 × 192), T2W sequences in the sagittal plane (TR: 4450 ms, TE: 120, FOV: 1809 × 829, thickness 2.9 mm, matrix 224 × 224); enhanced spin-echo sequences were performed in the dorsal, transverse and sagittal planes. The MRI images were obtained with a thickness of 2.7–3.5 mm.

# 3. Results

Figure 1 corresponds to a bone-window CT sagittal plane, in which each line and number (I–V) represents approximately the level of the following anatomical, CT and MRI transverse planes. Transversal sections revealing the relevant anatomical structures of the rhinoceros iguana head are presented (Figures 2–6). Figures 2–6 are composed of three images: (A) macroscopic, (B) bone window CT and (C) MRI. The images are presented in a rostrocaudal progression from the maxillary bone (Figure 2) to the brainstem levels (Figure 6). Figures 7 and 8 are composed of two images: (A) bone-window CT and (B) MRI in T2W, in a dorsal and sagittal plane, respectively. Figure 9 is a T2W sequence sagittal image showing the angulation concerning the horizontal axis of the myelencephalon (40°).

# 3.1. Anatomical Sections

Different structures belonging to the central nervous system were visualized by anatomical gross-sections. Therefore, we identified the brain (telencephalon) and the two telencephalic hemispheres (Figures 4A and 5A) separated by the *fissura longitudinalis cerebri* (Figure 5A), the diencephalon (thalamus) (Figures 4A and 5A), the dorsal part of the mesencephalon with the two caudal colliculus (Figure 6A) and the ventral part of the cerebellum with the nodule, covering part of the fourth ventricle, as well as the ventral surface of the brainstem (myelencephalon) (Figure 6A). These sections were also helpful for the observation of the olfactory bulb that showed an extracranial location, ventral to the frontal bones, and coursed between the two eyeballs (Figure 3). In addition, these sections allowed the description of structures of the eyeball, identifying the cornea, the
sclera, the retina, the vitreous humor, the lens, as well as associated structures such as the interorbital septum and the orbital sinus (Figures 3A and 4A). In addition, these transverse sections allowed the identification of structures belonging to the oral cavity such as the tongue (Figure 2A) and other structures such as the larynx, with the corniculate tubercles of the arytenoid cartilage, the thyroid cartilage, and the laryngeal ventricle (Figure 3A), as well as of different structures of the nasal cavity such as the nasal glands that filled almost the entire cavity, the conchal grooves and the stammteil located laterally to the nasal septum (Figure 2A). Adjacent structures such as the trachea and the nasopharynx were also well identified (Figures 4A, 5A and 6A). Furthermore, most bony structures that form the neurocranium were observed, such as the pterygoid, frontal, postfrontal-postorbital, parietal, supraoccipital, basioccipital, exoccipital, otoccipital, parabasisphenoid and sphenoid bones (Figures 3A, 4A, 5A and 6A), as well as those that form the splanchnocranium such as the nasal, vomer, palatine and maxillary bones (Figures 2A and 3A) and also the medial horn located dorsal to the nasal bone (Figure 2A), the mandible, with the dentary bone (Figure 3A), and the hyoid apparatus, visualizing the central body of the hyoid arch, between the lateral branches of the dentary bone (Figure 3A). Rostromedially to the two dentary bones, we identified different muscles related to the hyoid apparatus such as the musculus genihyioideus, hyoglossus and intermandibularis (Figures 2A and 3A). In the following sections, we also observed the muscle groups corresponding to the mandibular musculature (we were not able to dissect them, and therefore they were treated as a group), including the pterygoideus, omohyoideus, sternohyoideus, ceratohyoideus, adductor mandibulae



externus medialis and its homonym superficialis (Figures 4A and 5A).

Figure 1. Sagittal CT bone window image of the head of rhinoceros iguana that approximately representing the level of the slices of this study. Segments I–V correspond to Figures 2–6.



Figure 2. Transversal gross-section (A), CT bone window (B), and MRI in T1W (C), images of the head of rhinoceros iguana at the level of the nasal cavity corresponding to line I in Figure 1. Mh: Medial horn. N: Nasal bone. Prf: Prefrontal bone. Ns: Nasal septum. Ng: Nasal glands. Sr: Subconchal recess. St: Stammteil. ch.gr: Choanal groove. V: Vomer. Mx: Maxillary bone. Tg: Tongue. Eg: Entoglossal process of the basihyal bone. cn.tt: Canine tooth. 1: *Musculus geniohyoideus + Musculus hyoglossus + intermandibularis.* D: Dentary bone. Mk.fs: Meckelian fossa.



Figure 3. Transversal gross-section (A), CT bone window (B), and MRI in T2W (C), images of the head of rhinoceros iguana in the orbital region corresponding to line II in Figure 1. Fr: Frontal bone. Pfr-Po: Postfrontal-postorbital bone. Ob: Olfactory bulb. Ac: Anterior chamber. R: Retina. So: Scleral ossicles. I: Iris. E: Eyeball. C: Cornea. Sc: Sclera. L: Lens. Hv: Vitreous chamber. Is: Interorbital septum. Hg: Harderian gland. Si: Infraorbital sinus. Pa: Palatine bone. Mx: Maxillary bone. O: Oral cavity. Cor: Corniculated tubercles of arytenoid cartilage. Lxv: Laryngeal ventricle. Th: Thyroid cartilage. D: Dentary bone. Mk.fs: Meckelian fossa. Ha: Hyoid apparatus. T: Trachea. 1: Musculus geniohyoideus + Musculus hyoglossus + Musculus intermandibularis. Vs: Ventral spines.

6 of 12



Figure 4. Transversal gross-section (A), CT bone window (B), and MRI in T2W (C), images of the head of rhinoceros iguana at the level of the frontal bone corresponding to line III in Figure 1. 3: *Musculus adductor mandibulae externus medialis*. P: Parietal bone. Pfr-Po: Postfrontal-Postorbital bone. TL: Telencephalon. FL: *Fissura longitudinalis cerebri*. DPR: Dorsal Pallium Rostral Part. Tha: Thalamus. E: Eyeball. Sp: Sphenoid bone. Pt: Pterygoid bone. J: Jugal bone. Pa: Palatine bone. O: Oral cavity. 4: *Musculus adductor mandibulae externus Pars superficialis*. Mx: Maxillary bone. cn.tt: Caniniform tooth. Np: Nasopharyngeal duct. Co: Coronoid. San: Surangular bone. An: Angular bone. 2: *Musculus intermandibularis* + *Musculus geniohyoideus* + *Musculus hyoglossus* + *Musculus pterygoideus* + *Musculus omohyoideus* + *Musculus sterohyoideus* + *Musculus ceratohyoideus*. T: Trachea. Ha: Hyoid apparatus.



Figure 5. Transversal gross-section (A), CT bone window (B) and MRI in T2W (C), images of the head of rhinoceros iguana at the level of the anterior dorsal ventricular ridge (ADVR) corresponding to line IV in Figure 1. P: Parietal bone. Pfr-Po: Postfrontal-Postorbital bone. Sq: Squamousal bone. E: Eyeball. TL: Telencephalon. FL: Fissura longitudinalis cerebri. Tha: Thalamus. ADVR: Anterior Dorsal Ventricular Ridge. DCx: Dorsal cortex. 3: Musculus adductor mandibulae externus medialis. 4: Musculus adductor mandibulae externus superficialis. Pb: Parabasisphenoid bone. Pt: Pterygoid bone. Ep: Epipterygoid bone. PtPa: Pterygoid-palatine processes. add.fs: Adductor fossa. An: Angular bone. San: Surangular bone. Ha: Hyoid apparatus. O: Oral cavity. T: Trachea. Vs: Ventral spines.



Figure 6. Transversal gross-section (A), CT bone window (B) and MRI in T2W (C), images of the head of rhinoceros iguana at the level of the occipital region corresponding to line V in Figure 1. P: Parietal bone. Soc: Supraoccipital bone. Sq: Squamosal bone. 3: *Musculus adductor mandibulae externus superficialis*. C: Cerebellum. PDVR: Posterior Dorsal Ventricular Ridge. Bs: Brain stem. cc: Caudal colliculus. IV: Fourth ventricle. Ot: Otoccipital bone. Eo: Exoccipital bone. Bo: Basioccipital bone. Oc: Otic cavity. Q: Quadrate bone. PtQ: Pterygoid-quadrate processes. Art: Articular bone. add.fs: Adductor fossa. O: Oral cavity. T: Trachea. Ha: Hyoid apparatus. Vs: Ventral spines.



Figure 7. (A) Dorsal CT image in the brain window. (B) Dorsal MRI in the T2W sequence of the head of rhinoceros iguana telencephalon and at the olfactory bulb level. Px: Premaxillary bone. Ns: Nasal septum. Mx: Maxillary bone. Ng: Nasal glands. Ob: Olfactory bulbs. Prf: Prefrontal bone. E: Eyeball. L: Lens. So: Scleral ossicles. Fr: Frontal bone. TL: Telencephalon. 3: Musculus adductor mandibulae externus medialis. Pfr: Postfrontal bone. Po: Postorbital bone. P: Parietal bone. Soc: Supraoccipital bone. Sq: Squamosal bone. C1: First cervical vertebra.



Figure 8. (A) Mid-sagittal CT image in the brain window. (B) Sagittal MRI in the T2W sequence image of the head of rhinoceros iguana. Px: Premaxillary bone. Sx: Septomaxilla. D: Dentary bone. N: Nasal bone. Mh: Medial horn. Prf: Prefrontal bone. Pa: Palatine bone. O: Oral cavity. Tg: Tongue. Fr: Frontal bone. Is: Interorbital sinus. P: Parietal bone. Soc: Supraoccipital bone. Soc.cr: Supraoccipital crest. Pt: Pterygoid bone. Bo: Basioccipital bone. Ob: Olfactory bulbs. TL: Telencephalon. C: Cerebellum. Bs: Brainstem. Di: Diencephalon. Mt: Metencephalon. My: Myelencephalon.



Figure 9. Rhinoceros iguana encephalic angulation, sagittal T2W image with respect to the horizontal axis of the myelencephalon  $(40^{\circ})$ .

#### 3.2. Computed Tomography (CT)

Regarding the neurocranium, the CT images allowed us to distinguish bone structures such as the prefrontal, frontal, postfrontal-postorbital, parietal, squamosal, quadrate, epipterygoid, pterygoid, basioccipital, exoccipital, otoccipital and parabasisphenoid bones (Figures 3B, 4B, 5B and 6B); related to the splanchnocranium, we observed the nasal, premaxilla, maxilla, septomaxilla, vomer, jugal and palatine bones, and the nasal septum (Figures 2B, 3B, 4B, 7B and 8B); the mandible structures such as the dentary, angular, surangular, coronoid and articular bones (Figures 2B, 3B, 4B, 5B and 6B) and the hyoid apparatus (Figures 2B, 3B, 4B, 5B and 6B). CT scanning and post-processing transverse images showed the relation between the different bones that form the head of the rhinoceros iguana, the junction of the nasal and the prefrontal bone, as well as that of the parietal bone with the postfrontal-postorbital bone (Figures 2B and 4B), and the palatine and quadrate processes of pterygoid bone (Figures 5B and 6B respectively). The prominent medial horn was identified dorsal to the nasal bone with soft-tissue attenuation and a thin, lamellar-shaped mineral structure bordering it regularly on its most external aspect (Figure 2B).

Concerning the nasal cavity, the transverse CT image showed the nasal glands as symmetrical bilateral structures, with regular and well-defined margins, located on both sides of the nasal cavity and with soft tissue attenuation (Figure 2B). Moreover, those structures with intraluminal gas content such as the nasal conchal recess (Figure 2B), oral cavity, nasopharyngeal duct, trachea, adductor fossa (Figure 4B) and the otic cavity (Figure 6B) were identified with this technique, appearing with a vacuum effect. In addition, there were areas of soft tissue attenuation medial to the mandible and bilateral to the hyoid apparatus, compatible with the *intermandibularis, genihyioideus* and *hyoglossus* muscles (1 in Figures 2B and 3B), the *pterygoideus, omohyoideus, sternohyoideus* and *ceratohyoideus* muscles (2 in Figure 4B), the *adductor mandibulae externus medialis* and *superficialis* muscles located, respectively, dorsomedially and ventrolaterally to the adductor fossa (3 and 4 in Figures 4B and 5B).

In addition, we distinguished with adequate resolution different structures of the central nervous system such as the olfactory bulb, the brain (telencephalon and diencephalon), the cerebellum and the brainstem (Figures 3B, 4B, 5B and 6B).

#### 3.3. Magnetic Resonance Imaging (MRI)

The soft structures of the iguana's head, such as the central nervous system as well as the eyeball's structures (vitreous humor and lens), the oral cavity with the tongue and the masticatory muscles, showed an accurate visualization using MRI (Figures 2C, 3C, 4C, 5C and 6C). Therefore, an increased volume of both eyeballs in proportion to the size of the head was seen in all sequences (Figures 3C and 7B). As in CT, the structures with gas content (Figures 2C and 6C) appeared with a vacuum effect, being hypointense in all sequences. The nasal glands were bilaterally symmetric, with regular and well-defined margins, located on both sides of the nasal cavity, being iso/hyperintense in T1W and T2W sequences, compared to the encephalic grey matter (Figures 2C and 4C). In contrast, the medial horn appeared hypo/isointense on T1W and T2W sequences concerning the white matter and with mild differentiation of the external bony cortex in relation to the white matter (Figure 2C).

In contrast to the CT images, the bone junctions were not distinguishable on MRI, but those bones that formed the neurocranium, such as the frontal, postfrontal-postorbitary, parietal and supraoccipital bones were identified (Figures 3C, 4C, 5C, 6C and 8B). The cranial musculature was found isointense concerning the thalamus in T2W. This technique enabled a better resolution to identify the muscle groups already mentioned (Figures 2C, 3C, 4C and 5C). In the transverse planes of the encephalon, the cerebral cortex was observed slightly more hyperintense than the white matter, which was more hypointense in T2W sequences (Figure 4C). The diencephalic region (Figures 4C, 5C and 8B) was hypointense (T2W) compared to the cerebral cortex (Figure 5C), showing the thalamus and hypothalamus (Figure 8B). The brainstem appeared hypo/isointense in T2W compared to the cerebral cortex, as well as presenting a markedly tortuous horizontal alignment (Figure 8B). Moreover, the caudal colliculus and the fourth ventricle were also displayed in excellent detail. In the rostral aspect of the telencephalon, we distinguished the dorsal pallium rostral part with its lateral and medial portions (Figure 4C). Interestingly, the dorsal MRI image was quite helpful to identify the olfactory bulb located extracranially, which extended rostromedially between the eyeballs (Figures 3C, 7B and 8B).

#### 4. Discussion

Technological developments in imaging techniques have improved the anatomical knowledge and the diagnosis of several pathologies. From conventional imaging methods, such as radiography and ultrasound, to advanced ones such as CT and MRI, the level of resolution, the rapid acquisition of images and the absence of superimposition have meant innovation in research, daily clinical practice and academic purposes [11,12,28–30].

According to other descriptive studies of different reptile species [1,3,12,14,16,17,20], the images obtained by CT, MRI and gross-sections were adequate to study the rhinoceros iguana head. Therefore, the gross-sections provided accurate anatomic characteristics of the head structures, mainly those related to the brain, the eyeball and the larynx. To the authors' knowledge, a unique description using gross-section and conventional CT equipment was performed of the green iguana head [22], but only a few brain and laryngeal structures were labelled.

Considering the green iguana [26], some differences were found between the bony structures of these species. Thus, we identified the presence of three horns on the dorsal aspect of the nasal region, which are absent in the green iguana. Moreover, the evaluation of the transverse CT images obtained in the bone window and the post-processing in MPR showed a lower prominence of the occipital ridge in the rhinoceros iguana compared to the green iguana. In addition, as described by other authors [22], the CT images of the rhinoceros iguana head displayed in excellent detail the bony structures compared to the anatomic gross-section. With MRI, the palatine, frontal, postfrontal-postorbital, parietal, supraoccipital bones and crest were distinguishable due to a gross-section and with both imaging techniques. In addition, the eyes were easily displayed with all the techniques used. Nonetheless, specific eyeball structures, such as the iris and the scleral ossifications, were better identified by CT and were hardly visible in anatomic gross-sections, where the lens, the retina, the sclera and the vitreous chamber could be visualized. Some of these structures are of scientific and morphological interest to perform further studies on the dimensions of the eyeball and vision ability [29,30].

The use of MRI was valuable for visualizing organs located in the head. Thus, transverse MR images T2W facilitated the accurate identification of the main components of the brain, such as the telencephalon, diencephalon, mesencephalon, metencephalon and myelencephalon. Therefore, we identified specific structures such as the lateral ventricles, the anterior dorsal and posterior dorsal ventricular ridges, the cerebellum, the fourth ventricle, the dorsal pallium and the brain stem with the caudal colliculus. Interestingly, the dorsal MR T2W image showed the olfactory bulb isointense compared to the telencephalon, located in the rostral portion of the encephalon but in an extracranial situation, remaining in the rostromedial aspect of the eyeballs (extracranial structures). In contrast to other articles that excluded the olfactory bulb description, we present the shape, location and intensity of this structure [31]. This extracranial location was already observed in previous studies on the tawny dragon [31]. However, this finding had not been reported in other species of reptiles, such as the rhinoceros iguana. The gross-section images confirmed the presence of these structures and their rostral extension. Interestingly, in other species, such as galliform birds, the olfactory bulbs are separated from the telencephalic hemispheres but located intracranially, protected by the frontal bone [32].

In addition, the MRI and CT findings showed a greater angulation concerning the horizontal axis of the encephalon, with an angulation of 40° between the central horizontal axis of the skull and the central axis of the encephalon (dorsal displacement concerning the encephalon of the dog) (Figure 9), differing from other studies where an angulation of 28° was described [31]. In galliform birds, the brain has a similar angulation to the skull axis [32]. More similar aspects to the latter were found, such as the large size of the eyeballs, which were almost as large as the whole encephalon [32]. Nonetheless, further studies with a large number of animals should be performed to confirm these findings.

Finally, several studies carried out in reptiles have been performed with micro-CT equipment, as it has a higher resolution, allowing a better distinction of anatomical for-

mations [33–35]. However, in our work, the combined application of different advanced techniques (CT, MRI) and macroscopic anatomical sections provided helpful information for anatomic descriptions in teaching and clinical practice.

#### 5. Conclusions

In conclusion, CT and MRI appeared to be adequate tools, providing anatomical references of the different bone and soft tissue structures comprising the head of the rhinoceros iguana. Therefore, the findings obtained in this study are helpful for evaluating numerous processes involving the head of these animals, such as abscesses, metabolic bone diseases, fractures and neoplasia. Moreover, these two imaging techniques could contribute to veterinary anatomy learning by our students as these techniques allow the visualization of structures without overlapping, eliminating the difficulties of visualizing the extent of different types of lesions.

Author Contributions: Conceptualization, J.R.J., E.G.R. and M.E.Q.; methodology, M.E.Q., E.G.R. and H.A.N.; investigation, J.R.J., E.G.R. and M.E.Q.; resources, D.M.B. and J.G.G.; writing—original draft preparation, J.R.J. and E.G.R.; writing—review and editing, J.R.J., M.E.Q., E.G.R., J.G.G., D.M.B. and H.A.N. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Rancho Texas Lanzarote Park is in conformed that all animal identifies information obtained from this study will be treated as confidential to the extent permitted by law, and only used for research or teaching purposes.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Data is unavailable due to privacy or ethical restrictions.

Acknowledgments: In loving memory of Alvaro Domingo and Honorio Rodriguez Garcia. We also thank Carmen Mingot, Ayesh Mohamad, Marisa Mohamad, Jamal Jaber and Fatima Alswikie for their support and constructive comments and the Rancho Texas Lanzarote Park (Lanzarote, Canary Islands, Spain) for providing the animals of this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

#### References

- Alberts, A.C. West Indian Iguanas. Status Survey and Conservation Action Plan; IUCN: Gland, Switzerland; Cambridge, UK, 2000; ISBN 2831704561.
- 2. Glor, R.E.; Powell, R.; Parmerlee, J.S., Jr. Cyclura Cornuta. Cat. Am. Amphib. Reptil. 2000, 8235, 1-6.
- Egnatios-Beene, J. Cyclura Cornuta. Available online: https://animaldiversity.org/accounts/Cyclura\_cornuta/ (accessed on 13 February 2023).
- Banzato, T.; Russo, E.; Di Toma, A.; Palmisano, G.; Zotti, A. Evaluation of Radiographic, Computed Tomographic, and Cadaveric Anatomy of the Head of Boa Constrictors. Am. J. Vet. Res. 2011, 72, 1–8. [CrossRef]
- Lauridsen, H.; Hansen, K.; Wang, T.; Agger, P.; Andersen, J.L.; Knudsen, P.S.; Rasmussen, A.S.; Uhrenholt, L.; Pedersen, M. Inside out: Modern Imaging Techniques to Reveal Animal Anatomy. PLoS One 2011, 6, e17879. [CrossRef] [PubMed]
- Knotek, Z. Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice. Reptil. Med. Surg. 2006, 471–489. [CrossRef]
- 7. Urbanová, D.; Halán, M. The Use of Ultrasonography in Diagnostic Imaging of Reptiles. Folia Vet. 2016, 60, 51–57. [CrossRef]
- 8. Bannas, P.; Adam, G.; Derlin, T. Modern Imaging Techniques in Patients with Multiple Myeloma. RoFo 2013, 185, 26–33.
- Behroozi, M.; Billings, B.K.; Helluy, X.; Manger, P.R.; Güntürkün, O.; Ströckens, F. Functional MRI in the Nile Crocodile: A New Avenue for Evolutionary Neurobiology. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 2018, 285, 20180178. [CrossRef] [PubMed]
- Knipe, M.F. Principles of Neurological Imaging of Exotic Animal Species. Vet. Clin. North Am.—Exot. Anim. Pract. 2007, 10, 893–907. [CrossRef]
- Banzato, T.; Hellebuyck, T.; Van Caelenberg, A.; Saunders, J.H.; Zotti, A. A Review of Diagnostic Imaging of Snakes and Lizards. Vet. Rec. 2013, 173, 43–49. [CrossRef]
- Pérez, S.; Encinoso, M.; Morales, M.; Arencibia, A.; Suárez-Bonnet, A.; González-Rodríguez, E.; Jaber, J.R. Comparative Evaluation of the Komodo Dragon (Varanus Komodoensis) and the Green Iguana (Iguana Iguana) Skull by Three-Dimensional Computed Tomographic Reconstruction. *Slov. Vet. Res.* 2021, 58, 111–116. [CrossRef]

- Hernández Morales, C.; Peloso, P.L.V.; Bolívar García, W.; Daza, J.D. Skull Morphology of the Lizard Ptychoglossus Vallensis (Squamata: Alopoglossidae) with Comments on the Variation Within Gymnophthalmoidea. Anat. Rec. 2019, 302, 1074–1092. [CrossRef]
- Sterli, J.; Müller, J.; Anquetin, J.; Hilger, A. The Parabasisphenoid Complex in Mesozoic Turtles and the Evolution of the Testudinate Basicranium. Can. J. Earth Sci. 2010, 47, 1337–1346. [CrossRef]
- Jaber, J.R.; González-Rodríguez, E.; Arencibia, A.; Deniz, S.; Carrascosa, C.; Encinoso, M. Anatomical Description of Loggerhead Turtle (Caretta Caretta) and Green Iguana (Iguana Iguana) Skull by Three-Dimensional Computed Tomography Reconstruction and Maximum Intensity Projection Images. *Animals* 2023, 13, 621. [CrossRef]
- Arencibia, A.; Melián, A.; Orós, J. Anatomic Interactive Atlas of the Loggerhead Sea Turtle (Caretta Caretta) Head. Animals 2021, 11, 198. [CrossRef] [PubMed]
- Arencibia, A.; Rivero, M.A.; De Miguel, I.; Contreras, S.; Cabrero, A.; Orós, J. Computed Tomographic Anatomy of the Head of the Loggerhead Sea Turtle (Caretta Caretta). Res. Vet. Sci. 2006, 81, 165–169. [CrossRef]
- Yamaguchi, Y.; Kitayama, C.; Tanaka, S.; Kondo, S.; Miyazaki, A.; Okamoto, K.; Yanagawa, M.; Kondoh, D. Computed Tomographic Analysis of Internal Structures within the Nasal Cavities of Green, Loggerhead and Leatherback Sea Turtles. *Anat. Rec.* 2021, 304, 584–590. [CrossRef]
- Pérez, S.; Encinoso, M.; Corbera, J.A.; Morales, M.; Arencibia, A.; González-rodríguez, E.; Déniz, S.; Melián, C.; Suárez-bonnet, A.; Jaber, J.R. Cranial Structure of Varanus Komodoensis as Revealed by Computed-tomographic Imaging. *Animals* 2021, 11, 1078. [CrossRef]
- Moreno, K.; Wroe, S.; Clausen, P.; McHenry, C.; D'Amore, D.C.; Rayfield, E.J.; Cunningham, E. Cranial Performance in the Komodo Dragon (Varanus Komodoensis) as Revealed by High-Resolution 3-D Finite Element Analysis. J. Anat. 2008, 212, 736–746. [CrossRef]
- Banzato, T.; Selleri, P.; Veladiano, I.A.; Zotti, A. Comparative Evaluation of the Cadaveric and Computed Tomographic Features of the Coelomic Cavity in the Green Iguana (Iguana Iguana), Black and White Tegu (Tupinambis Merianae) and Bearded Dragon (Pogona Vitticeps). J. Vet. Med. Ser. C Anat. Histol. Embryol. 2013, 42, 453–460. [CrossRef]
- Banzato, T.; Selleri, P.; Veladiano, I.A.; Martin, A.; Zanetti, E.; Zotti, A. Comparative Evaluation of the Cadaveric, Radiographic and Computed Tomographic Anatomy of the Heads of Green Iguana (Iguana Iguana), Common Tegu (Tupinambis Merianae) and Bearded Dragon (Pogona Vitticeps). BMC Vet. Res. 2012, 8, 1. [CrossRef]
- Pasachnik, S.A.; Colosimo, G.; Carreras-De León, R.; Gerber, G. Genetic Structure of Rhinoceros Rock Iguanas, Cyclura Cornuta, in the Dominican Republic, with Insights into the Impact of Captive Facilities and the Taxonomic Status of Cyclura on Mona Island. Conserv. Genet. 2020, 21, 837–851. [CrossRef]
- Reynolds, R.G.; Miller, A.H.; Pasachnik, S.A.; Knapp, C.R.; Welch, M.E.; Colosimo, G.; Gerber, G.P.; Drawert, B.; Iverson, J.B. Phylogenomics and Historical Biogeography of West Indian Rock Iguanas (Genus Cyclura). *Mol. Phylogenet. Evol.* 2022, 174, 107548. [CrossRef] [PubMed]
- Reece, R.L.; Dickson, D.B.; Butler, R. An Osteopetrosis-like Condition in a Juvenile Rhinocerus Iguana (Cyclura Cornuta). Aust. Vet. J. 1986, 63, 343–344. [CrossRef]
- 26. Evans, S.E. The Skull of Lizards and Tuatara. Biol. Reptil. 2008, 20, 2-227.
- Arencibia, A.; Hidalgo, M.R.; Vázquez, J.M.; Contreras, S.; Ramírez, G.; Orós, J. Sectional Anatomic and Magnetic Resonance Imaging Features of the Head of Juvenile Loggerhead Sea Turtles (Caretta Caretta). Am. J. Vet. Res. 2012, 73, 1119–1127. [CrossRef] [PubMed]
- Spadola, F.; Barillaro, G.; Morici, M.; Nocera, A.; Knotek, Z. The Practical Use of Computed Tomography in Evaluation of Shell Lesions in Six Loggerhead Turtles (Caretta Caretta). Vet. Med. 2016, 61, 394–398. [CrossRef]
- Christman, J.; Devau, M.; Wilson-Robles, H.; Hoppes, S.; Rech, R.; Russell, K.E.; Heatley, J.J. Oncology of Reptiles: Diseases, Diagnosis, and Treatment. Vet. Clin. North Am.—Exot. Anim. Pract. 2017, 20, 87–110. [CrossRef]
- Avens, L.; Taylor, J.C.; Goshe, L.R.; Jones, T.T.; Hastings, M. Use of Skeletochronological Analysis to Estimate the Age of Leatherback Sea Turtles Dermochelys Coriacea in the Western North Atlantic. Endanger. Species Res. 2009, 8, 165–177. [CrossRef]
- De Queiroz, K. The Scleral Ossicles of Sceloporine Iguanids: A Reexamination with Comments on Their Phylogenetic Significance. Herpetologica 2023, 38, 302–311.
- Hoops, D.; Desfilis, E.; Ullmann, J.F.P.; Janke, A.L.; Stait-Gardner, T.; Devenyi, G.A.; Price, W.S.; Medina, L.; Whiting, M.J.; Keogh, J.S. A 3D MRI-Based Atlas of a Lizard Brain; Wiley Periodicals, Inc: Hoboken, NJ, USA, 2018; Volume 526, ISBN 3415253201.
- 33. Getty, R. The Anatomy of the Domestic Animals, 5th ed.; Macmillan Company of India Limited: Mumbai, India, 2004.
- du Plessis, A.; Broeckhoven, C.; Guelpa, A.; le Roux, S.G. Laboratory X-Ray Micro-Computed Tomography: A User Guideline for Biological Samples. Gigascience 2017, 6, 1–11. [CrossRef]
- Broeckhoven, C.; Du Plessis, A. X-Ray Microtomography in Herpetological Research: A Review. Amphib. Reptil. 2018, 39, 377–401. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Skull Morphology of the Rhinoceros iguana (Cvclura cornuta cornuta) using different Computed Tomography Reconstruction Methods (3D Volume Rendering, Maximum Intensity Projection and Volume Rendering Multiplanar Reconstruction) Eligia GONZÁLEZ RODRÍGUEZ<sup>1</sup>, Mario ENCINOSO<sup>1</sup>, José Raduan JABER<sup>2\*</sup> 1 Hospital Clínico Veterinario, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35413 Las Palmas, Spain; 2 Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña, Arucas, 35413 Las Palmas, Spain. \*Corresponding author Jose Raduan Jaber Mohamad Email: joseraduan.jaber@ulpgc.es Fax: +34928451130 **ABSTRACT** The Rhinoceros iguana (Cyclura cornuta cornuta), is a reptile endemic to the island of Hispaniola in the Caribbean Sea and faces a serious threat of extinction due to human activities, placing it in a critical position on the IUCN Red List. In response to this situation, captive recovery plans have been implemented in different parts of the world, including rehabilitation centers and zoos. The lack of detailed studies on the normal anatomy of the Rhinoceros iguana's head presents a challenge for veterinary professionals and biologists working with this species in controlled environments. With the purpose of addressing this knowledge gap, the main objective of this work is the creation of a detailed osteological atlas of the cranial structures of the Rhinoceros iguana. To achieve this, various methods of three-dimensional reconstruction using computed tomography will be employed, followed by thorough processing of the resulting images. This atlas will not only serve as a valuable tool in clinical settings for professionals dealing with these iguanas in recovery programs but also as an essential educational resource for teaching anatomy to students and specialists interested in the conservation of endangered species. **Keywords:** Computed tomography, anatomy, skull, reptiles, rhinoceros iguana. **INTRODUCTION** 

51 52 Reptiles are present on almost the entire surface of the planet. Being poikilothermic 53 animals, they live in warm areas such as Asia, Africa and South America. In addition, 54 these animals have a great capacity for adaptation, inhabiting very different ecosystems, 55 from tropical forests to deserts (1). In the field of veterinary medicine of reptiles, the 56 studies belonging to the family Iguanidae, and in particular the Green iguana (Iguana 57 iguana), are noteworthy due to its popularity as a companion animal in recent decades (2-58 4). Unfortunately and due to human activities, certain species of iguanas are in danger of 59 extinction, as is the case of the rhinoceros iguana (Cyclura cornuta cornuta). This species 60 is included in the IUCN Red List of Threatened Species in the Endangered category. The 61 name of this animal comes from the modified horn-like scales dorsal to the snout: two 62 rostral scales, caudally to the nasal openings, and a more pronounced medial one located 63 caudally to the anterior ones, in the interorbital region. These attributes are more 64 developed in male individuals than in females. Until 2000, there were three subspecies of 65 rhinoceros iguana: Cyclura cornuta cornuta from Dominican Republic and Haiti, Cyclura cornuta stejnegeri from Mona Island, Puerto Rico, Cyclura cornuta onchiopsis from 66 67 Navassa Island, the latter now extinct (5).

68

Limited existing literature on the Rhinoceros iguana focuses mainly on phylogenetic
population studies (6), conservation and recovery programs for the species (7), as well as
some papers about pathologies related to reproductive (8) and metabolic disorders (9).

72

73 However, to the author's knowledge, only a few papers have performed anatomical 74 studies in this species using advanced imaging techniques such as computed tomography 75 (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) (10). In contrast, in other iguanid species, 76 such as the Green iguana, more articles in this field used conventional imaging 77 equipment, such as radiography and ultrasound, but only sparse reports describe the use 78 of CT and MRI (12,13). Additionally, some studies have used more specialized 79 equipment, such as micro-CT, intending to deepen the study of several structures, such 80 as the blood vessels that do not inherently present high contrast (13). Likewise, there is 81 available bibliography on comparative anatomical studies of the cephalic region of 82 different iguanid species with the Green iguana, the reference species in this family, 83 showing the existence of a high intraspecific diversity (14–16).

84

85 Moreover, CT allows postprocessing to obtain multiplanar reconstructions (MPR), and 86 three-dimensional reconstructions that provide valuable information on the structures of 87 the region under study. Among the post-processing techniques, the most commonly used 88 are Maximum Intensity Projection (MIP) and Volume Rendering (VR3D) (17). The MIP 89 technique displays the maximum intensity of pixels along a projection beam in a two-90 dimensional image, preferentially showing bone structures and regions of high contrast. 91 On the other hand, VR3D is a technique that creates a three-dimensional image in which 92 the voxels that make up the image can be programmed to be visible or not, to have 93 different colors and different levels of opacity (18). The volumetric data can then be 94 resampled using series of computer algorithms and manually edited to distinguish the 95 region of interest from surrounding structures.

96

97 Consequently, due to the lack of anatomical studies on this species and the importance 98 given the current risk status, our objective was to provide a detailed anatomical 99 description of the rhinoceros iguana head using advanced imaging procedures that could 100 serve as a guide for anatomical and pathological studies in this species.

- 101
- 102

### 103 MATERIAL AND METHODS

104 105 *Animals* 

105 106

107 Two carcasses of adult female rhinoceros iguana (*Cyclura cornuta cornuta*) were 108 collected from the zoological park "Rancho Texas Lanzarote Park" (Lanzarote, Canary 109 Islands, Spain). One female measured 94 cm and the other 91 cm both from snout to tail. 110 They weighed 5 and 4.2 kg, respectively. The animals died of natural causes, and no 111 abnormalities were found on physical examination.

112

## 113 <u>Computed Tomography Procedures</u>114

115 Transverse CT images were performed at the Veterinary Hospital of Las Palmas de Gran 116 Canaria University using a 16-slice helical CT scanner (Toshiba Astelion, Canon 117 Medical System, Tokyo, Japan). The animals were placed in ventral recumbency on the 118 CT couch to perform the study. We used a standard clinical protocol (100 kVp, 80 mA, 119 512 X 512 acquisition matrix, 1809 x 858 field of view, a spiral pitch factor of 0.94, and 120 a gantry rotation of 1.5 s) to obtain sequential transverse CT images (1mm thickness) in 121 soft tissue and bone/pulmonary algorithms. The original transverse data were recorded 122 and transferred to the CT workstation. No CT density or anatomic variations were 123 detected in the reptile's head used in the investigation. In this study, we applied two CT 124 windows by adjusting the window widths (WW) and window levels (WL) to appreciate 125 the CT appearance of the head structures: a bone window setting (WW = 1500; WL = 126 300) and a soft tissue window setting (WW = 350; WL = 40). Moreover, dorsal and 127 sagittal multiplanar reconstructed (MPR) images were also obtained to better visualize 128 the iguana head structures. The original data were used to generate head volume-rendered 129 reconstructed images (VR3D) after manual editing of the transverse CT images to remove 130 soft tissues using a standard Dicom 3D format (OsiriX MD, Geneva, Switzerland). 131 Besides, using the MPR technique, we increased the thickness to 12mm to obtain both 132 multiplanar volume rendering (MPR-VR) and maximum intensity projection (MIP) 133 reconstructed images, which could provide essential information on the bony structures.

- 134
- 135 <u>Anatomic Evaluation</u>136

After post-processing, the images with the highest definition were selected in rostral, lateral, dorsal, ventral and caudal views. Subsequently, a detailed anatomical description of the osteocranium of this species was made, grouping the bones in different sections as detailed in the bibliography and references consulted (1,3,11,19).

141

142

### 143 **RESULTS**

144

Different images were obtained using tomographic reconstruction techniques. Figures 1-5 are composed of 3 images: (A) VR3D, (B) MIP and (C) MPR-VR. The images were grouped according to rostral (Figure 1), lateral (Figure 2), dorsal (Figure 3), ventral (Figure 4), and caudal (Figure 5) planes. These images provided good visualization of the different bones that constitute the head of the rhinoceros iguana for subsequent detailed anatomical description, which are divided into the following sections:



153 154

Figure 1. Rostral VR3D (A), MIP (B) and MPR-VR (C) views of Cyclura cornuta cornuta skull. Px: Premaxillary bone. V: Vomer. N: Nasal bone. Sr: Subconchal recess. 155 156 St: Stammteil. Ns: Nasal septum. Mh: Medial horn. Prf: Prefrontal bone. Fr: Frontal bone. 157 Pfr: Postfrontal bone. Po: Postorbitary bone. E: Eyeball. Mx: Maxilla. J: Jugal bone. Tg: 158 Tongue. Eg: Entoglossal process of the basihval bone. D: Dentary bone. Mk.fs: 159 Meckelian fossa.

- 160
- 161



162 163

Figure 2. Lateral VR3D (A), MIP (B) and MPR-VR (C), views of Cyclura cornuta 164 cornuta skull. Px: Premaxillary bone. Mx: Maxilla. Ns: Nasal septum. N: Nasal bone. 165 Mh: Medial horn. Prf: Prefrontal bone. L: Lacrimal bone. Saf: Superior alveolar foramen. 166 Fr: Frontal bone. So: Scleral ossicles. J: Jugal bone. Pro: Prootic bone. Pfr: Postfrontal 167 bone. Po: Postorbital bone. Sq: Squamosal bone. P: Parietal bone. Soc: Supraoccipital 168 bone. St: Supratemporal bone. Q: Quadrate bone. D: Dentary bone. San: Surangular bone. 169 An: Angular bone. Co: Coronoid bone. Pt: Pterygoid bone. Ept: Epipterygoid bone. Art: 170 Articular bone. Ha: Hyoid apparatus. 171

172





**Figure 3.** Dorsal VR3D (A), MIP (B) and MPR-VR (C), views of *Cyclura cornuta cornuta* skull. Px: Premaxillary bone. V: Vomer. Ns: Nasal septum. Mx: Maxilla. Mh: Medial horn. N: Nasal bone. Pa: Palatine bone. Pa.m: Maxilar process of the palatine bone. Prf: Prefrontal bone. Fr: Frontal bone. Cr.cr: *Crestae cranii*. E: Eyeball. L: Lacrimal bone. Lf: Lacrimal foramen. So: Scleral ossicles. J: Jugal bone. Pfr: Postfrontal bone. Po: Postorbitary bone. Pro: Prootic bone. P: Parietal bone. Sq: Squamosal bone. Q: Quadrate bone. Art: Articular bone. Soc: Supraoccipital bone.

182



183

**Figure 4.** Ventral VR3D (A), MIP (B) and MPR-VR (C), views of *Cyclura cornuta cornuta* skull. Px: Premaxillary bone. V: Vomer. D: Dentary bone. Pa: Palatine bone. Eg: Entoglosal process of basihyal. PtP: Palatine process of the pterygoid. Pt: Pterygoid bone. PtT: Transverse process of the pterygoid. Sp: Sphenoid bone. Bpt.pr: Basipterygoid process. Eg: Entoglossal process of the basihyal bone. Cp: Cultriform process. Ap: Alar process. An: Angular bone. Art: Articular bone. Bo: Basioccipital bone. Bh: basihyal. 1cb: first ceratohyoid. 2cb: second ceratohyoid. Hc: hyal cornu. Eh: epihyal.

191



193

194 Figure 5. Caudal VR3D (A), MIP (B) and MPR-VR (C), views of Cyclura cornuta 195 cornuta skull. P: Parietal bone. Po: Postorbital bone. Sq: Squamosal bone. Sc: Occipital 196 sagital crest. Soc: Supraoccipital bone. Fm: Foramen magnum. Ppo: Paroccipital process. 197 Ot: Otoccipital bone. Eo: Exoccipital bone. Bo: Basioccipital bone. Bt: Basioccipital 198 tubercle. Eg: Entoglossal process of the basihyal bone. Q: Quadrate bone. PtQ: Quadrate 199 process of the pterygoid. Pt: Pterygoid bone. Ept: Epipterygoid bone. Art: Articular bone. 200 An: Angular bone. Bh: basihyal. 1cb: first ceratohyoid. 2cb: second ceratohyoid. Hc: hyal 201 cornu. Eh: epihyal. 202

203 204

### 204 Skull Roofing Bones205

#### 206 - Nasal bone (Os Nasale)

207

208 The nasal bone is a paired bone that articulates with its controlateral at the level of the 209 mid-sagittal plane (Figures 1, 2, 3A,B). It is roughly triangular in morphology, and 210 slightly convex, forming the dorsocaudal wall of the nostrils. VR and MPR-VR revealed 211 a good definition of this bone, being able to observe its articulation rostrally with the 212 premaxillary, caudodorsolaterally with the prefrontal, lateroventrally with the maxillary, 213 and laterocaudally with the lacrimal (Figure 2). Besides, this bone shows a protuberance (pseudohorn) with soft tissue attenuation (Figure 2B). This structure is located at the 214 215 caudal border of the nostrils in the midline of the nasal bone (Figure 3A).

216 217

#### - Frontal bone (Os Frontale)

218

219 The frontal bone is the major component of the roof skull and contributes to the dorsal 220 orbital margin (Figures 1A, 2, 3). It is an unpaired bone with lateral projections that fit 221 between the nasals and prefrontal bones (Figure 2), and a short medial process that 222 extends between the nasals in the midline (Figure 2B). Caudally it contacts the parietal, 223 and laterally it is separated from the postorbital by the postfrontal bone (Figures 3A, 3B). 224 Figure 3C corresponds to a MPR-VR of a dorsal section showing that the frontal bone 225 has shallow divergent ridges, described as *cristae cranii*, which form a narrow channel 226 for the olfactory tracts.

227

#### 228 - Parietal bone (Os Parietale)

229

The parietal is a short, unpaired bone, which presents anterolateral processes, that contact the postfrontal bones rostromedially, the postorbital bones laterally (Figure 3), and postparietal processes, that meet the squamosal bones caudolaterally (Figure 3), the paroccipital processes caudomedially (Figure 5), and the supratemporal bones laterally(Figure 2).

235 236

238

240

### 237 Tooth-bearing Bones of the Upper Jaw

### 239 - Premaxillary bone (Os Premaxillare)

The premaxillary bone has a broad, flat base, with a V-shaped morphology (Figures 1A, 2, 3). Caudolaterally articulates with the maxilla, caudodorsally with the nasal bone (Figures 2, 3C), and caudoventrally with the vomer (Figure 3C). In the rostral threedimensional image (Figure 1A), an alveolar plate presenting among 6-7 dentary positions was observed.

246 247

248

### - Maxillary bone (Os Maxillare)

249 The maxilla is a bone located lateral and ventral to the nostril on each side of the skull 250 (Figures 1, 2, 3). It is a tall and wide bone. On its dorsal surface, it presents a triangular 251 process, called the facial process that articulates with the nasal bone anterodorsally, with the lacrimal and prefrontal bones dorsally, and with the jugal bone caudally (Figure 2). 252 253 Rostrolaterally, it articulates with the premaxilla through the anterior process, also called 254 the premaxillary process (Figure 2), and ventrally with the pterygoid bone, through the 255 posterior process, forming the ventrolateral wall of the nasal fossa (Figures ·3A, B). 256 Laterally, it presents an alveolar border in which the teeth are lodged. These teeth extend 257 to the posterior end of the bone, showing no region without teeth (Figure 2A). In all lateral reconstructions (Figure 2), there is an opening located on the lateral surface of both 258 259 maxillary bones that correspond to the exit of the superior alveolar canal, originating a 260 foramen through where run the maxillary nerve and accompanying blood vessels.

261 262

266

### 263 Circumorbital Bones

### 264265 - Prefrontal bone

The prefrontal is a paired triangular plate bone located on the posterolateral wall of the nasal capsule, contacting the nasal bone rostromedially and ventrally with the maxillary bone (Figures 1A, 2, 3). It presents a dorsal process, which connects with the frontal bone well visible in Figure 3C, and a ventral process that contacts the palatine, the jugal and the lacrimal bones (Figure 2B).

272 273

### - Lacrimal bone (Os Lacrimale)

The lacrimal is a small paired bone located at the orbital margin (Figures 2, 3). This bone contacts the ventral process of the prefrontal bone, the maxillary, and the jugal bones (Figure 2B). The lacrimal foramen was slightly visible thanks to VR3D postprocessing (Figure 3A), located between the lacrimal bone and the ventral process of the prefrontal, through which the nasolacrimal duct passes.

- 280
- 281
- 282

- 283
- Jugal bone (*Os Jugale*)
- 284

The jugal is a paired bone that runs along the infraorbital edge of the maxilla, forming the lateral border of the bony orbit (Figures 1A, 2, 3). Its medial portion is long and broad, whereas, caudally, it is curved and thin. Rostrally, it contacts the prefrontal and the lacrimal (Figure 2B) and rostroventrally with the maxilla (Figure 2). Dorsally, it articulates with the postorbital and squamosal bones, enclosing the caudolateral margin of the orbit (Figure 2).

291 292

293

### - Postfrontal bone (Processus Postfrontalis)

The postfrontal bones are small paired bones that delimit the caudodorsal margins of the bony orbits (Figures 1A, 2, 3A, B). Rostrally, they articulate with the frontal bone, laterally with the postorbital, and medially with the parietal (Figures 3A and B).

### 298 - Postorbital bone (*Processus Postorbitalis*)

The postorbital is a roughly triangular paired bone, whose dorsal apex joins the
postfrontal bone conforming the posterior margin of the orbit (Figures 1A, 2, 3A, B, 5).
Dorsocaudally contacts with the parietal bone, ventrally with the jugal bone and
approaches the squamosal bone caudolaterally (Figures 3A, B).

304 305

# 306 Temporal Bones307

### - Squamosal bone (*Os Squamosum*)

308 309

The squamosal bone is a small paired bone on the lateral surface of the otic capsule (Figures 2, 3, 5). Presents a triradiate morphology with three processes: an anterior process contacting the postorbital and jugal bones; a posterior process contacting the parietal and supratemporal bones; and a ventral process contacting the dorsal edge of the quadrate bone (Figure 2).

315 316

### - Supratemporal bone

The supratemporal bone is a small roughly triangular bone, located dorsal to the otic
capsule. It contacts ventrally with the quadrate bone, rostrally with the squamosal bone,
dorsally with the parietal bone, and caudomedially with the paraoccipital process in the
roof of the skull (Figure 2).

322 323

### 324 Palatoquadrate Derivatives

# 325326 - Quadrate bone (Os Quadratum)

327

The quadrate is composed of a central pillar, which supports two condyles: the dorsal (cephalic) and ventral (mandibular) condyles. The cephalic condyle is rounded and joins the paroccipital process laterocaudally and the supratemporal bone dorsomedially (Figures 2, 3A). The mandibular condyle can be divided into two parts: the medial wing, which articulates with the pterygoid bone, and the lateral wing, whose elevated edge(tympanic crest) supports the tympanum (Figures 5A, C).

334 335

336

### - Epipterygoid bone

The epipterygoid is a thin tubular bony structure. Ventrally, articulates with the dorsal surface of the pterygoid (Figures 2, 5A,C). This is a synovial joint, allowing some freedom of movement. Dorsally, it contacts the parietal bone (Figures 5A,C), and the anterior margin of the prootic.

- 341
- 342
- 343 Palate
- 344 345

#### 345 **- Vomer** 346

The vomer is a roughly triangular paired bone, which apex is directed rostrally (Figures
1B, 3C and 4). The vomer is located ventromedial to the vomeronasal organ, serving as
its support. It is a toothless bony structure. Rostrally, it joins with the maxillary and
premaxillary bones, caudally with the palatine and medially with its contralateral (Figures
3C and 4).

## 353 - Palatine bone (Os Palatinum)354

The palatine bones are located dorsal to the choana. It forms part of the medial wall of the suborbital foramen and are toothless structures (Figures 1C, 3C and 4). They present three processes through which articulate rostrally with the vomer (through the vomerine process), laterally with the maxillary and prefrontal bones (through the maxillary process) and caudally with the pterygoid bone (through the pterygoid process). Only the maxillary process was observed in this study (Figure 3C).

361 362

### - Pterygoid bone (Os Pterygoideum)

363

The pterygoid bones are paired and form the bony wall of the caudal palate and the caudomedial wall of the suborbital foramen (Figures 2, 4, 5). They present two processes in rostral and caudal views: the palatine or anterior process and the quadrate or posterior process. The palatine processes join the palatine bones rostrally (Fig. 4). The quadrate processes articulate with basipterygoid processes and the medial wing of the quadrate bone caudomedially (Figures 5A, C). Dorsally, it joins by a synovial joint with the epipterygoid bone and laterally with the ectopterygoid bone (Figures 2, 4).

- 371 372
- 373 Braincase
- 374

### 375 - Basioccipital bone (Os Basioccipitale)

376

The basioccipital bone is a roughly rectangular bone lying in the posterior half of the ventral plane (Figures 4C, 5). It forms the caudal floor of the skull and the medial portion of the occipital condyles. Caudally it has two lateral elevated facets that contact the exoccipital bone. Rostrolaterally, it articulates with the prootic bone and the sphenoid bone (Figure 4C).

### - Sphenoid bone (Os Sphenoidale)

The sphenoid is a trapezoidal bone that forms the floor of the cranial cavity. It articulates with the pterygoid rostrolaterally and the basioccipital caudally (Figure 4). On its rostral surface, we observed two lateral processes (Figure 4C). These basipterygoid processes are short and thick and articulate with the pterygoid bone (Figure 4C). Between these processes, we observed a pointed structure, the rostrum parasphenoidale (cultriform process) (Figure 4C). In addition, on its caudal surface, it presents two alar processes, which are distinguished in the MPR-VR image (Figure 4C).

391 392

### - Supraoccipital bone (Os Supraoccipitale)

- The supraoccipital bone constitutes the dorsal part of the foramen magnum (Figures 2,3,5). It articulates dorsally with the parietal bone, ventrally with the exoccipital bone, and rostrally with the prootic bone (Figure 5). The dorsal surface has a low ridge, the sagittal crest (Figures 5A, C). Laterally, the bone expands to enclose the upper part of the braincase.
- 400 Otoccipital bone
- 401

399

The otoccipital is a bone located ventrolaterally to the supraoccipital and dorsolaterally
to the basioccipital. It forms part of the lateral portion of the foramen magnum (Figures
5A, C).

405

### 406 - Exoccipital bone (Os Exoccipitale)407

408 The exoccipital is a bony structure relatively triangular in shape, small and thick, which 409 forms part of the caudal wall of the skull bordering the caudolateral edges of the foramen 410 magnum. It articulates caudomedially with the basioccipital and dorsally with the 411 otoccipital (Figure 5).

412

### 413 - Prootic bone414

The prootic bone constitutes the rostroventral third of the otic capsule, forming part of the cochlear cavity, as well as the roof and the lateral wall of the tympanic cavity (Figures 2, 3C). Laterally, it contacts the paraoccipital processes, dorsally with the supraoccipital bone (Figure 3C), and ventrally with the parabasiesphenoid bone. Due to the location presented by this bone and the high overlap of adjacent structures, its visualization was only possible by VR3D and MPR-VR views (Figures 2A, 3C).

421 422

### 423 Lower Jaw

424

### 425 - Dentary bone (Os Dentale)

426

The dentary is the main bone of the mandible (Figures 1,2,3). Caudally, it contacts the
coronoid, surangular and angular bones (Figure 2). Medially, it presents an alveolar
platform with 20-25 tooth positions (Figure 2B). Rostrally, it tapers forming a rounded
symphyseal surface (Figure 1A). In the rostral MPR-VR image, the Meckellian fossae

431 were observed, extending caudally until interrupted at the caudal aspect of the coronoid432 bone (Figure 1C).

433

# 434 - Coronoid bone (Os Coronoideum)435

436 The coronoid is a triangular bone located dorsal to the labial aspect, between the dentary 437 and surangular bones (Figure 2). There are five processes: dorsal, labial, anteromedial, 438 posteromedial and posterior. The dorsal process is thin and conical, slightly 439 distinguishable in the lateral image (Figure 2A, C). The remaining processes could not be 440 correctly differentiated by the reconstruction techniques used.

441

## 442 - Angular bone (Os Angulare)443

The angular bone is a thin, lamellar bony structure that extends on the medial aspect of
the mandible. It forms the ventrocaudal margin of the mandible (Figures 2, 3, 5).
Rostrally, it contacts the dentary bone, and caudally with the articular bone.

## 448 - Surangular bone (Os Surangulare)449

The surangular bone forms the dorsocaudal aspect of the mandible. It lies caudal to the
coronoid bone (Figure 2). On its lateral aspect, it has a large anterior facet that contacts
the dentary bone rostrally, and a smaller, caudoventral facet that contacts the angular bone
(Figure 2B)..

454

## 455 - Articular (*Os Articulare*) and Prearticular bones456

The articular bone is located on the dorsocaudal surface of the mandible. Rostrally, it articulates with the coronoid and surangular bones. On its dorsal aspect it presents condyles that contact the quadrate bone (Figures 2, 3A, 4, 5).

460 461

## 462 Hyoid apparatus (Os Hyoideum)463

The hyoid apparatus is located in the intermandibular space (Figures 1A, 2, 4A, B, 5). This structure provides support to the tongue and larynx. It is composed of a pentagonal piece (Figure 4A), which presents three structures: a central (basihyal) structure, an anterior process, and two caudolateral processes. In the rostral MPR-VR image, the anterior process of the hyoid apparatus (the entoglossal process of the basihyal bone), located in the middle of the tongue, is revealed as a hyperattenuating structure (Figure 470 1C).

- 471
- 472

### 473 **DISCUSSION**

474

In this study, we used different computed tomography reconstruction techniques (VR3D,
MIP and MPR-VR), which demonstrated proper differentiation of the bony structures that
conform to the skull of the rhinoceros iguana. From the dorsal and ventral images (Figures
3, 4), as well as from the lateral images (Figure 2), a triangular morphology of the skull
was observed. In the latter projection (Figure 2), an elongated preorbital region was also
observed in comparison with the green iguana. Using volumetric surface reconstruction

481 (VR3D), the dorsal modification of the nasal bone was observed, showing a small process 482 where the medial horn emerges (Figures 2A and C). Additionally, this procedure was 483 helpful to identify specific structures such as the lacrimal foramen. However, this 484 structure could only be visualized thanks to the MIP reconstruction, showing a triangular 485 shape with soft tissue attenuation (Figure 2B). Somewhat similar occurs with the 486 visualization of the superior alveolar foramen, located in the maxillary bone, being 487 observed with greater definition in the multiplanar volumetric reconstruction (MPR-VR) 488 (Figure 2C), and not so well defined with MIP (Figure 2B). Nonetheless, this last 489 technique displayed valuable bony relations, such as that of the ventral process of the 490 prefrontal with the jugal bone. In contrast, the relation of the ventral process of the 491 prefrontal with the palatine bone was not identified as mentioned in other reports (10,11).

492

493 Otherwise, subjective image analysis and objective measurements of this study also 494 demonstrated a rather small hyoid apparatus concerning a larger one when compared with 495 green iguana (19). Moreover, the cultriform process of the sphenoid bone of the 496 rhinoceros iguana is not as developed as in the green iguana, showing, in the first one, as 497 a pointed structure whose apex points rostrally. Some articles have studied the 498 extracranial location of the olfactory bulbs in iguanas and tawny dragons (13,14). In this 499 study, the MPR-VR technique revealed the cristae cranii, structures that start from the 500 ventral portion of the frontal bone and form a narrow channel through which the olfactory 501 bulbs pass.

502

503 Despite the importance and usefulness of these reconstructions, they may also present 504 certain limitations. In three-dimensional (3D) images, it is difficult to distinguish between 505 closely spaced voxels with similar Hounsfield units, and interpolation can sometimes fill 506 in suture lines, masking or underestimating valuable information (17). It is why MIP 507 reconstructions are so important, which, although visually not as attractive, provide us 508 with more detail and real information (15). Therefore, the combination of different 509 computed tomography reconstruction techniques (VR3D, MIP, MPR-VR), provides 510 essential information for anatomical descriptions of the rhinoceros iguana skull, which 511 could be used for clinical purposes, as well as a tool to teach anatomy in veterinary 512 schools (20).

513

### 514

### 515 CONCLUSIONS

516

517 The skull of the rhinoceros iguana is a very complex structure composed of different 518 bones and presents significant differences compared to other iguanas. Results obtained 519 through the different reconstructive techniques by computed tomography allowed 520 adequate identification and subsequent description of the structures that compose it. Such 521 tools are helpful identifying bony structures since they eliminate overlapping and present 522 a good definition, obtaining valuable information for an accurate anatomical description. 523 Due to its good definition, the MIP made it possible to visualize the interosseous relationships of the skull bones. Combining these images with those obtained by 524 525 volumetric techniques improved the quality of morphological descriptions and thereby 526 contributed to the learning of veterinary anatomy. They are also very useful for evaluating 527 numerous processes that affect the head of these animals, such as abscesses, metabolic 528 bone diseases, fractures and neoplasia, minimizing the difficulties of visualizing the 529 extent of the different types of lesions. 530

#### 531 **REFERENCES**

- 532
- 1. Arantes RC, Soares M de JV, Lima AKF, Carneiro E Silva FO, Honorato de Oliveira
  A das G. (2016). The skull bones of the Iguana iguana. Biosci J.32(1):219–25.
- 535 2. Holmes SP, Divers SJ. 53 Radiography—General Principles. In: Divers SJ, Stahl SJ,
- editors. Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery. 3rd ed. W.B. Saunders
  600
- 537 Company; 2019. p. 486–90.
- 3. Banzato T, Selleri P, Veladiano IA, Martin A, Zanetti E, Zotti A. (2012). Comparative
- 539 evaluation of the cadaveric, radiographic and computed tomographic anatomy of the 540 heads of green iguana (Iguana iguana), common tegu (Tupinambis merianae) and bearded
- 541 dragon (Pogona vitticeps). BMC Vet Res [Internet]. 8(1):1.
- 4. Banzato T, Selleri P, Veladiano IA, Zotti A. (2013). Comparative evaluation of the
  cadaveric and computed tomographic features of the coelomic cavity in the green iguana
  (Iguana iguana), black and white tegu (Tupinambis merianae) and bearded dragon
  (Pogona vitticeps). J Vet Med Ser C Anat Histol Embryol.42(6):453–60.
- 546 5. Pasachnik SA, Carreras De León R. Cyclura cornuta, hispaniolan Rhinoceros Iguana
- 547 [Internet]. Vol. 8235, The IUCN Red List of Threatened Species. [cited 2023 Jun 20]. p.
  548 1–6. www.iucnredlist.org
- 549 6. Reynolds, R. Graham, Miller, Aryeh H., Pasachnik, Stesha A., Knapp, Charles R.,
- 550 Welch, Mark E., Colosimo, Giuliano, Gerber, Glenn P., Drawert, Brian, Iverson, John B.
- 551 (2022). Phylogenomics and historical biogeography of West Indian Rock Iguanas (genus 552 Cyclura). Mol Phylogenet Evol [Internet];174(April):107548. Available from:
- 553 https://doi.org/10.1016/j.ympev.2022.107548
- 554 7. Grant TD, Hudson RD. (2015). West Indian iguana Cyclura spp reintroduction and 555 recovery programmes: Zoo support and involvement. Int Zoo Yearb. 49(1):49–55.
- 8. Mehler SJ, Rosenstein DS, Patterson JS. (2002). Imaging diagnosis Follicular torsion
  in a green iguana (Iguana iguana) with involvment of the left adrenal gland. Vet Radiol
  Ultrasound.43(4):343–5.
- 558 Onrasound. 45(4). 543–5.
  559 9. Ferguson, Gary W., Gehrmann, William H., Bradley, Kelly A., Lawrence, Bradley,
  560 Hartdegen, Ruston, Storms, Tim, Chen, Tai C., Holick, Michael F. (2015). Summer and
  561 Winter Seasonal Changes in Vitamin D Status of Captive Rhinoceros Iguanas (Cyclura)
- 562 cornuta). J Herpetol Med Surg. 25(3–4):128.
- 563 10. González Rodríguez E, Encinoso Quintana M, Morales Bordon D, Garcés JG, Artiles
  564 Nuez H, Jaber JR. (2023). Anatomical Description of Rhinoceros Iguana (Cyclura
  565 cornuta cornuta) Head by Computed Tomography, Magnetic Resonance Imaging and
  566 Gross-Sections. Animals. 13(6):955.
- 567 11. Jaber JR, González-Rodríguez E, Arencibia A, Deniz S, Carrascosa C, Encinoso M.
- 568 (2023). Anatomical Description of Loggerhead Turtle (Caretta caretta) and Green Iguana
- (Iguana iguana) Skull by Three-Dimensional Computed Tomography Reconstruction and
   Maximum Intensity Projection Images. Animals.13(4):621.
- 12. Banzato T, Hellebuyck T, Van Caelenberg A, Saunders JH, Zotti A. (2013). A review
   of diagnostic imaging of snakes and lizards. Vet Rec.173(2):43–9.
- 5/2 of diagnostic imaging of snakes and fizards. Vet Rec. 1/3(2):43–9.
- 573 13. Broeckhoven C, Du Plessis A. (2018) X-ray microtomography in herpetological
  574 research: A review. Amphib Reptil.39(4):377–401.
- 575 14. Conrad JL, Norell MA. (2010). Cranial Autapomorphies in Two Species of Iguana
  576 (Iguanidae: Squamata). Soc Study Amphib Reptil [Internet]. 44(2):307–12.
- 577 15. Bochaton C, Grouard S, Breuil M, Ineich I, Tresset A, Bailon S. (2016). Osteological
- 578 Differentiation of the Iguana Laurenti, 1768 (Squamata: Iguanidae) Species: Iguana
- 579 iguana (Linnaeus, 1758) and Iguana delicatissima Laurenti, 1768, with some Comments
- 580 on their Hybrids. J Herpetol. 50(2):295–305.

- 16. Pérez, Sara, Encinoso, Mario, Morales, Manuel, Arencibia, Alberto, Suárez-Bonnet,
  Alejandro, González-Rodríguez, Eligia, Jaber, J. Raduan (2021). Comparative evaluation
  of the Komodo Dragon (Varanus Komodoensis) and the green Iguana (Iguana Iguana)
  skull by three-dimensional computed tomographic reconstruction. Slov Vet Res.
  58(3):111–6.
- 586 17. Fishman EK, Ney DR, Heath DG, Corl FM, Horton KM, Johnson PT. (2006). Volume
  587 rendering versus maximum intensity projection in CT angiography: What works best,
  588 when, and why. Radiographics.26(3):905–22.
- 589 18. Calhoun PS, Kuszyk BS, Heath DG, Carley JC, Fishman EK. (1999). Three-590 dimensional volume rendering of spiral CT data: Theory and method. 591 Radiographics.19(3):745–64.
- 592 19. Evans SE. (2008). The Skull of Lizards and Tuatara. In: Biology of the Reptilia.
- 593 20. Jaber JR, Carrascosa C, Arencibia A, Corbera JA, Ramirez AS, Melian C. (2018). 3-
- 594 D computed tomography reconstruction: Another tool to teach anatomy in the veterinary
- 595 colleges. Iran J Vet Res. 19 (1):1–2