

El perro (*Canis familiaris*) como modelo animal en estudios con implantes dentales: Revisión bibliográfica actualizada.

The dog (Canis familiaris) as an animal model in dental implant studies: An updated review of the literature.

Gilberto Valenzuela Vásquez,* Ricardo Manuel Sánchez-Rubio Carrillo,** Alejandro Plascencia Jorquera,***
Luis Atilano Soto Cantero,**** Ileana Grau León*****

RESUMEN

Introducción: La inconsistencia de los resultados obtenidos en experimentos donde se evalúan las respuestas anatómicas y fisiológicas de la interfaz hueso-implante en perros es evidente. Varios factores pueden estar involucrados en esta variación de resultados relacionados con las unidades experimentales y por el diseño del experimento en sí. El objetivo de esta revisión de literatura científica es exponer los principales factores que afectan la variación de estos resultados. **Material y métodos:** Se compararon las recomendaciones ideales para experimentación de implantología dental en perros, con aquellas metodologías publicadas los últimos 13 años (2000-2013). La búsqueda y selección de literatura fue realizada en PubMed, NCBI y Google Scholar. 61 artículos fueron incluidos para análisis de raza, edad, peso y estatus gonadal, se conformó una base de datos con esos factores más relevantes, y número de repeticiones por tratamiento. Para su análisis, se eligieron los cambios en el nivel crestral óseo como variable de respuesta, determinando la varianza observada para nivel crestral. Se utilizó la información del comportamiento crestral óseo dentro de las 61 publicaciones, obteniendo 38 datos de medias y desviación estándar utilizados para determinar el número de repeticiones para un valor de significancia ($p < 0.10$ y $p < 0.05$) y una precisión (en mm) determinada para detectar diferencias. **Conclusiones:** De acuerdo con el material revisado y analizado, las inconsistencias pueden obedecer más al material experimental y su diseño, que a los propios tratamientos en estudio. Futuras publicaciones deberán incluir información más completa y detallada sobre las características de las unidades experimentales y del diseño del experimento que permitan generar una inferencia más precisa de los resultados obtenidos.

Palabras clave: Modelo animal, perros, implantes dentales.

ABSTRACT

Introduction: The degree of variation in the results obtained in experiments that evaluate the anatomical and physiological responses of bone-implant interfaces in dogs is marked. This variance may be due to several factors, including the experimental units and the design of the experiment itself. The aim of this review of the scientific literature is to present the main factors that affect the variation in these results. **Material and methods:** A comparison was made between what are the recommended methods for trials involving canine dental implants and those published in the literature over the last 13 years (2000-2013). The literature in question was found and selected from articles available in PubMed, NCBI, and Google Scholar. A total of 61 articles were included in order to allow an analysis based on race, age, weight, and gonadal status. These key factors were used to construct a database, which included the number of repetitions per treatment. Crestal bone level changes were chosen as the response variable for analysis purposes and the observed variance in crestal bone level was determined. Data on crestal level behavior from the 61 publications were used, which provided 38 pieces of mean and standard deviations data. These were then used to determine the number of repetitions of a particular significance value ($p < 0.10$ and $p < 0.05$) and specific precision (in mm) to enable differences to be identified. **Conclusions:** According to the material reviewed and discussed, the variation in question may be due more to the experimental material and its design than to the treatments that were studied themselves. Future publications should include more complete and detailed information on the characteristics of the experimental units and the experiment design so as to allow a more accurate inference to be drawn from the results.

Key words: Animal model, dogs, dental implants.

* Profesor Restauradora y Prótesis Fija. Facultad de Odontología. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, B.C. México.

** Profesor Odontopediatria. Facultad de Odontología. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, B.C. México.

*** Profesor Nutrición Animal. Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, B.C. México.

**** Profesor de Ortodoncia. Facultad de Estomatología. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

***** Profesora Oclusión. Facultad de Estomatología. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

Recibido: Diciembre 2014. Aceptado para publicación: Marzo 2015.

INTRODUCCIÓN

La limitada posibilidad de extrapolar al humano los resultados obtenidos en estudios de implantología oral utilizando técnicas *in vitro*, crea la éticamente cuestionada necesidad de realizar investigación experimental en modelos vivos, cuya composición ósea y tejidos reaccionen de una forma semejante al humano. Aunque los modelos animales no reflejan completamente la condición humana, ya que su anatomía, fisiología, patología y biomecánica funcional no son similares, su biología provee la oportunidad de estudiar y probar nuevos biomateriales. El perro es uno de los modelos animales más utilizados^{1,2} y es generalmente adecuado para el ejercicio de este tipo de estudios. Existen evidencias que factores como la raza, la edad, el tamaño, y su estatus hormonal gonadal^{3,4} al momento de incluirlos en los experimentos pueden tener un efecto importante sobre los datos generados. Debido a que el grado de extrapolación de los resultados obtenidos en estos estudios puede afectarse por esos factores, el objetivo del presente artículo fue el de realizar una revisión actualizada sobre las características deseables de los perros como unidades experimentales en estudios de implantología. Adicionalmente, se expone el número de repeticiones como un elemento fundamental para la certidumbre de los resultados obtenidos. Dando una visión actual del tema, estas consideraciones se contrastan y discuten con las metodologías de experimentos publicados los últimos 13 años (2000-2013).

ANTECEDENTES

Con los animales mamíferos, los humanos compartimos algunas características biológicas en morfología y fisiología; desde tiempos antiguos, la medicina iniciaba la experimentación con animales, despertando el interés biomédico.² Los animales de laboratorio son pieza fundamental en las ciencias biomédicas, y reciben el nombre de modelo animal; los investigadores los han utilizado para comprender la etiología, diagnóstico y tratamiento de enfermedades del humano y los animales. Se han desarrollado técnicas quirúrgicas, vacunas, trasplantes de órganos, gracias a los animales en investigación biomédica.^{5,6}

Los nuevos biomateriales deben someterse a evaluaciones *in vitro* y también *in vivo*. Estas evaluaciones normalmente siguen un enfoque jerárquico, donde las pruebas *in vitro* implican desarrollar después estudios con animales *in vivo*, y finalizar ensayos clínicos en humanos.⁷ Los códigos internacionales de ética en investigación biomédica consideran los ensayos con animales una obligación previa a

ensayos clínicos en seres humanos. A la fecha no existen alternativas viables para experimentar con animales, los cultivos celulares y las simulaciones computacionales sólo proporcionan datos accesorios útiles, que servirían para reducir el número de animales experimentales.^{8,9} Solamente se debe experimentar con animales después de estudiar su importancia para la salud humana o animal o para el avance del conocimiento biológico.¹⁰

Con amplio uso en investigación de implantología, el principal inconveniente del conejo es su tamaño, comparándolo con animales grandes como perros y ovejas, ya que limita el tamaño y la colocación múltiple de implantes.^{1,7,11} El estándar internacional para evaluación biológica de implantes endoóseos (específica para estudios ortopédicos), recomienda para conejos la medida de 2 x 6 mm, máximo seis, tres de prueba y tres testigos, y para perros, cabras y cerdos el máximo es 12, seis de prueba y seis testigos, como es recomendado por la Organización Internacional de Normalización (ISO).¹²

El segundo animal más utilizado en investigación músculo-esquelética e implantes dentales es el perro; comparado con el conejo, el modelo canino es notablemente diferente, con sitios más grandes y relativamente diferentes en macro- y micromorfología ósea. Recientemente se conoció la secuencia del genoma canino, y está más cercanamente correlacionada con la humana que la del ratón y otros roedores. Se han evaluado diferencias cualitativas de huesos de varios animales, concluyendo que las diferencias bioquímicas en la composición de la rata y el humano indican que los datos recabados de las investigaciones óseas derivadas de este animal (el más frecuentemente usado), sean transferidos al humano con cuidado. También señalan al perro con el tejido óseo más semejante al humano, sin embargo, se basan sólo en observaciones de composición, densidad y calidad ósea, sin evaluar factores que influyen la respuesta ósea como la fisiología o la endocrinología; además establecen otra diferencia: el hueso de ratones no posee sistema haversiano.^{3,13}

En estudios implantológicos se utiliza al perro, realizando extracciones de premolares y ocasionalmente el primer molar, con periodo de cicatrización preimplantación, o inmediata a la extracción. En los sitios más comunes de implantación ha de considerarse que el área de premolares carece de contacto interoclusal real comparado con los molares, y que el remodelado óseo de maxilar y mandíbula es de tres a seis veces mayor que el fémur.¹⁴ Aunque el sitio intraoral proporciona una microestructura ósea morfológicamente similar al humano con respecto a la cortical, la tibia y fémur poseen áreas con

altas cantidades de hueso trabecular que los hace ideales para probar materiales osteoconductivos. La eliminación de posibles complicaciones en la extracción dental, hacen a la tibia y fémur más atractivos que los sitios intraorales.⁷

El perro como modelo

Se tomaron como referencia ideales en experimentación de implantología en perros a las recomendaciones vertidas por Kilkenny et al. (2010), comparándose con las metodologías publicadas los últimos 13 años (2000-2013) para conformar la base de datos con los factores previamente mencionados.¹⁵ La búsqueda de literatura y proceso de selección fue utilizando los motores de búsqueda PubMed, NCBI y Google Scholar. Para crear la base de datos se utilizaron las palabras clave: *dog, dental*

implants, estrogens, bone remodelling, intact, neutered, animal models. Los criterios de inclusión para integrarlos a la base de datos fueron: a) no más de 13 años de haber sido publicado, b) estar indexado y c) disponible como texto completo en formato de libre acceso; recabando 61 publicaciones (referenciadas al pie del Cuadro I). Basados en la revisión de literatura, la raza, edad, peso, sexo, estatus gonadal y número de observaciones se consideraron factores determinantes y fueron incluidos en la base de datos conformada, utilizando la hoja de cálculo Excel (Microsoft Office ver. Windows 8) y analizados mediante el paquete estadístico Statistix (User's Manual, Release 9.0. Analytical Software, Tallahassee, FL.).

Los estadísticos de los datos analizados se presentan en el *cuadro I*, los factores más determinantes de acuerdo con la literatura revisada a continuación se discuten.

Cuadro I. Estadística descriptiva de los 61 artículos analizados.*

| Factor | Frecuencia de mención | Observaciones |
|-------------------|---|--|
| Perros utilizados | 100% (61/61) | Media = 8.08 ± 6.53 Rango = 2-48 CV,% = 80.80 |
| Raza | 98.4% (60/61) | Beagle 51% Mestizos 18% Hounds 18% Labrador 11% |
| Edad, años | 74% (45/61) | Media = 1.82 ± 0.63 Rango = 1-4 CV,% = 34.69 |
| Peso, kg | 66% (40/61) | Media = 21.8 ± 8.1 Rango = 6-38 CV,% = 37.15 |
| Estatus hormonal | Género: 54% (33/61) Funcionalidad gonadal: 1.6% (1/61) | Machos = 82% Hembras = 18% 1 esterilizado |

* La base de datos se obtuvo de los siguientes 61 artículos:

Hermann et al (2001), Ohmae et al (2001), Seung-Mi et al (2001), King et al (2002), Assenza et al (2003), Botticelli et al (2003), Brogginini et al (2003), Jung et al (2005), Abrahamsson et al (2006), Araújo et al (2006), Becker et al (2006), De Vasconcelos-Gurgel et al (2007), Schwarz et al (2007), Kozlovsky et al (2007), Zhao et al (2007), Blanco et al (2008), De Maeztu et al (2008), Fickl et al (2008), Jung et al (2008), Pontes et al (2008), Abrahamsson et al (2009), Becker et al (2009), Cochran et al (2009), De Oliveira et al (2009), Leonard et al (2009), Novaes et al (2009), Barros et al (2010), Blanco et al (2010), Santos et al (2010), Valderrama et al (2010), Antunes et al (2011), Baffone et al (2011), Calvo-Guirado et al (2011), Hermann et al (2011), Negri et al (2011), Schwarz et al (2011), Valderrama et al (2011), Albouy et al (2012), Alghamdi et al (2012), Allen et al (2012), Bressan et al (2012), Campos et al (2012), Caneva et al (2012), Cano et al (2012), Coelho et al (2012), Jimbo et al (2012), López-Piriz et al (2012), Miura et al (2012), Olate et al (2012), Rodríguez et al (2012), Almeida et al (2013), Barckman et al (2013), Cochran et al (2013), Coelho et al (2013), Kim et al (2013), Koch et al (2013), Lei et al (2013), Liu et al (2013), Okada et al (2013), Wu et al (2013), Oirschot et al (2014).

Raza

El perro doméstico (*Canis familiaris*) es una de las especies con un gran número de razas, diferenciadas por el tamaño, apariencia y expectativa de vida. Fuente de obtención de modelos caninos son los criadores de razas puras o mestizas, y los centros de control animal, obteniendo regularmente perros mestizos; observando los requerimientos legales y bioéticos que norman su funcionamiento, se seleccionan por salud general y oral; al desconocer estatus de salud, se aíslan en cuarentena.^{9,6}

De las publicaciones revisadas, 60 de 61 publicaciones (98.3%) indicaron la raza utilizada: beagle 51%, basset hound representó un 18%, mestizos el 18%, labrador 11%. De la revisión bibliográfica de Albuquerque et al. (2012) se recaban datos que demuestran la gran similitud de la enfermedad periodontal que se presenta en humanos y también en el 80% de los perros a partir de los dos años de edad, tiene un alta incidencia en razas pequeñas y miniaturas; la enfermedad ocurre naturalmente, mimetizando los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad periodontal del humano. La raza beagle presenta una alta prevalencia a dicha enfermedad a los dos años de edad; comparada con otra raza de canes, los hace ser preferidos como modelos animales, debido a su carácter tranquilo y carencia de problemas de salud congénitos los hace una opción ideal como sujeto de experimentación *in vivo*.¹⁶ Las publicaciones revisadas cumplen mayoritariamente en este rubro.

Edad

Dependiendo de la raza, la edad promedio de perros en estudios en implantología es de uno a tres años, en este rango de edad se consideran esqueléticamente maduros. Para contrastar con el humano se debe considerar la edad comparativa entre especies. Con la finalidad de realizar una comparación de la edad del perro con la del humano, se realizó un estudio basándose en los datos de mortalidad de 23,535 perros obtenidos en la base de datos médicos veterinarios de los Estados Unidos (*Veterinary Medical Data Base VMDB*). El estudio arrojó datos zomórficos y genéticos interesantes: el tamaño del cuerpo es inversamente proporcional a la longevidad, la media de edad a la fecha de muerte es menor para razas puras comparadas con mestizas, los animales de peso menor son más longevos que los de mayor peso. Adicionalmente, se generó una ecuación utilizando curvas polinomiales ajustadas a la ecuación de Lebeau's¹⁷ estandarizando la edad de los perros con la de los humanos, el resultado es conocido como edad fisiológica (EF) y se calcula así:

$$EF, \text{ años comparativos} = \{[(-.0013 \times Y) + 0.0221] \times C^3\} + \{[(Y \times -0.0285) - 0.1071] \times C^2\} + \{[(0.2911 \times Y) + 4.9979] \times C\} + (-3.6437 \times Y) + 37.423.$$

Donde Y = longevidad promedio a la muerte expresada en años, asignada para el tamaño o raza según VMDB, y C = edad cronológica en años del perro.

De las publicaciones revisadas, el 74% (45/61) informó la edad de los perros. El promedio fue de 1.82 ± 0.63 años (rango de 1 a 4 años). Comparando las razas en las publicaciones, la edad promedio ponderada representa una edad fisiológica de 25.05 años. De acuerdo con el rango, la edad mínima fue de un año y está plasmada en 17.8% de las publicaciones en las cuales el 88% de los casos (7/8) fue para beagle, en esta raza un año representa, de acuerdo con la fórmula de Lebeau's una edad fisiológica humana de 20 años.

Tamaño

En el modelo animal el tamaño de sus rebordes alveolares deberá ser suficientemente alto y amplio. Las 61 publicaciones analizadas utilizaron implantes de uso convencional en humanos en el rango de 3.75 a 4.2 mm \varnothing x 8 a 10 mm de largo.

Dentro de cada raza existe una relación del tamaño con la edad y el peso del perro.⁴ Sólo el 66% (40 de 61) de las publicaciones indican el peso. El promedio de peso fue de 21.8 ± 8.1 kg (rango de 6 a 38 kg, CV = 37%) que es 31% mayor que el peso promedio informado para el beagle (15 kg). Esto es imprevisto considerando la frecuencia en que esta raza fue utilizada (51%) en los estudios evaluados. Existe poca relación del peso promedio indicado en las publicaciones con el promedio de edad determinada en las mismas, esto significa que la edad de los perros incluidos en los estudios no ha sido determinada con precisión. De las 40 publicaciones que informaron el peso, el 2.5% (1/40) no cumplió con el peso mínimo considerado para este tipo de experimentos. Es importante señalar que las revistas científicas omitieron, durante el proceso de revisión del artículo, la inclusión del dato del peso del perro, omisión importante por la relevancia que representa este factor en la extrapolación de resultados.

Estatus gonadal

Las hormonas gonadales intervienen, entre otras múltiples funciones, en la maduración de las células sexuales,

conducta y temperamento, y pérdida o incremento de la masa ósea. En animales bajo experimentación, el estatus hormonal está mediado tanto por el género como por su funcionalidad gonadal (intacto o esterilizado). Se ha demostrado que el esterilizado de los perros no disminuye la conducta agresiva en machos y que aumenta la agresividad en hembras afectando un número de situaciones conductuales en ambos sexos, algunas de naturaleza indeseable.^{18,19} Los esteroides sexuales juegan un papel importante para el crecimiento y mantenimiento del esqueleto de machos y hembras, alcanzando a cierta edad, el mayor pico en masa ósea en ambos sexos, posteriormente, se pierde masa ósea, siendo mayor y más acelerado en hembras en las cuales cesa o se interrumpe su ciclo estral.²⁰

A partir de 1987 se reconoce una relación funcional de las células óseas con los estrógenos, actualmente se sabe que las hormonas sexuales tienen una importante función en el crecimiento esquelético y la homeostasis ósea. Estudios de osteoporosis y gerontología humana informan que tanto en hombres como en mujeres, la disminución o ausencia de estrógenos interfiere en el remodelado y arquitectura ósea, aumentando la actividad osteoclástica y disminuyendo la osteoblástica, afectando el remodelado óseo.²¹ Evidencia clínica reciente sugiere que en machos, con bajos niveles de estradiol, su riesgo de fractura es más alto, y también el importante rol que la testosterona juega en la homeostasis esquelética masculina.²²

Los estudios del remodelado óseo en perros han determinado diferencias en la dinámica ósea entre hembras y machos, con mayor formación de hueso en machos mientras que en hembras existe una mayor resorción.²³ Por lo antes expuesto, es necesario considerar el estatus gonadal de los modelos caninos al utilizarlos en estudios de implantología.

El 54% de estudios publicados (32/61) reportan el género utilizado: 82% machos y 18% hembras. Sólo un estudio informa el uso de animales esterilizados. El no indicar si el animal está esterilizado, debe asumirse que está «intacto» pero esto no es confiable. Como variable de control relevante para el objeto de estudio debe ser indicado siempre el género y su condición de funcionalidad gonadal.

Número de observaciones

El tamaño de muestra o cálculo de número de observaciones es un proceso vital en la medición de las variables en estudio, ya que de éste depende el nivel de confianza

que permitirá obtener datos estadísticos confiables. La rigurosidad del experimento y la representatividad de las pruebas están directamente asociadas con la calidad y con la cantidad de observaciones que deben realizarse, así como con el total de muestras que debe ser tomado o con el número de repeticiones que debe efectuarse por tratamiento. La unidad experimental, es el objeto o espacio, individuo, situación o evento al cual se aplica el tratamiento y donde se mide y analiza la variable que se investiga. La repetición proporciona una estimación del error experimental, siendo tal estimación confiable a medida que aumenta el número de repeticiones, y permite estimaciones más precisas del tratamiento en estudio. En experimentos con implantes, la unidad experimental es el perro y el número de repeticiones lo representan los implantes que se utilicen por unidad experimental dividido entre los tratamientos. Por ejemplo, en un experimento donde se probaron dos tipos de implantes en seis perros con seis implantes por perro (3 implantes de cada tipo), entonces el número de repeticiones por tratamiento es igual a 18 ($6 \times 6 = 36/2 = 18$), el número de repeticiones se calcula multiplicando el número de perros por el número de implantes por animal, dividido entre el número de tratamientos. El número de repeticiones se puede calcular a través de la estimación *a priori* de la varianza de datos ya publicados y de la precisión deseada para poder establecer una diferencia significativa entre tratamientos.²⁴ Como ejemplo, en el caso de la comparación en los cambios del borde crestal en un periodo de tiempo determinado, la media y desviación estándar determinada en 39 observaciones de estudios publicados fue 0.88 ± 0.4861 mm, entonces, si se desea detectar diferencias estadísticas a una precisión determinada (vgr. 20% de 0.88 mm que equivale a detectar diferencias entre tratamientos de 0.18 mm en cambios de borde crestal) el número de repeticiones por tratamiento sería de 41 para una $p < 0.05$. El número de repeticiones de acuerdo con la precisión y valor de significancia deseado se muestra en el *cuadro II*.

Asumiendo, por la naturaleza de lo que se está midiendo y la precisión con que puede ser medido, que una diferencia aceptable para ser detectada es del 30%; entonces, el número de observaciones mínimo ideal sería de 17 a 20 repeticiones por tratamiento. Basándonos en lo anterior, 25 de las 61 publicaciones analizadas en las que midieron cambios de cresta ósea, el 16% (4/25) tuvo 17 o más repeticiones. Las repeticiones por tratamiento promediaron 15.7 (rango de 5 a 36) siendo 12 la clase más frecuente, ya que el 48% (12/25) de las publicaciones reporta esa cantidad.

Cuadro II. Número de repeticiones necesarias por tratamiento estudiado para evaluar cambios (en mm) en cresta ósea alveolar en perros basado en una media observada de 0.88 mm y una desviación estándar promedio observada de 0.4861 mm (n = 38 observaciones).

| Diferencia detectable como significativa, % de la media observada | Diferencia en mm detectable como significativa con respecto de una media esperada de 0.88 mm | Valor de p | Número de repeticiones/tratamiento ¹ |
|---|--|------------|---|
| 10 | 0.09 | 0.10 | 145 |
| | | 0.05 | 159 |
| 15 | 0.13 | 0.10 | 69 |
| | | 0.05 | 78 |
| 20 | 0.18 | 0.10 | 36 |
| | | 0.05 | 41 |
| 30 | 0.26 | 0.10 | 17 |
| | | 0.05 | 20 |
| 40 | 0.35 | 0.10 | 11 |
| | | 0.05 | 10 |
| 50 | 0.44 | 0.10 | 6 |
| | | 0.05 | 7 |

¹ Estimada como: $\# \text{ reps} = 2 (Z\alpha/2 + Z\beta)(\sigma/\delta)^2$, donde el valor $Z\alpha/2$ de tabla para $\alpha 0.05 = 1.96$ y para $\alpha 0.10 = 1.65$, para un valor de $Z\beta$ (probabilidad para error tipo II) de $20\% = 0.84$ y $\sigma = 0.4861$, obteniéndose a través de varianza ponderada de las 38 observaciones y δ = precisión para detección de diferencias entre medias de tratamiento de 0.09, 0.13, 0.18, 0.26, 0.35 y 0.44 mm.

CONCLUSIONES

La extensa publicación de estudios experimentales en implantología oral con perros, puede afirmar al perro como modelo animal para estudios de implantes dentales. Sin embargo, para que los resultados tengan una mayor certidumbre y una mejor extrapolación, los experimentos futuros deberán considerar dentro de su planificación la raza, la edad fisiológica (esqueléticamente maduros), el peso (tamaño) y condición gonadal, todos ellos elementos necesarios para contar con una alta probabilidad de extrapolación y repetitividad de los datos generados. Adicionalmente, el diseño del experimento debe ser apropiado y el control y manejo de las unidades experimentales deben cumplir con las normas de bioética y de bienestar animal. Para asegurar la inferencia estadística, el número de repeticiones deberá ser suficiente para el fenómeno biológico bajo estudio. En la medición del nivel crestral donde un 30% de diferencia entre los cambios de altura crestral (± 0.35 mm) se requieran considerar como estadísticamente significativos, entonces, el número mínimo de repeticiones por tratamiento debe de ser aproximadamente de 15.

BIBLIOGRAFÍA

- Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: A Review. *European Cells and Materials*. 2007; 13: 1-10.
- Neyt JG, Buckwalter JA, Carroll NC. Use of animal models in musculoskeletal research. *Iowa Orthop J*. 1998; 18: 118-123.
- Aerssens J, Boonen S, Lowet G, Dequeker J. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potencial implications for *in vivo* bone research. *Endocrinology*. 1998; 139 (2): 663-670. Available in: <http://endo.endojournals.org/content/139/2/663.full.pdf+html>.
- Salvin HE, McGreevy PD, Sachdev PS, Valenzuela MJ. The effect of breed on age-related changes in behavior and disease prevalence in cognitively normal older community dogs, *Canis lupus familiaris*. *J Vet Behav*. 2012; 7 (2): 61-69.
- Hernández S. El modelo animal en investigaciones biomédicas. *Biomedicina*. 2006; 3: 252-256. Disponible en: <http://www.um.edu.uy/docs/revistabiomedicina/2-3/modelo.pdf>
- Scientific and humane issues in the use of random source dogs and cats in research. Committee on scientific and humane issues in the use of random source dogs and cats in research www.national-academies.org. Available in: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32671/pdf/TOC.pdf>
- Coelho PG, Granjeiro JM, Romanos GE, Suzuki M, Silva NR, Cardaropoli G et al. Basic research methods and current trends of dental implants surfaces. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 88 (2): 579-596.
- Rodríguez E. Desafíos éticos de la investigación con animales, manipulación genética. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2012; 29 (4): 535-540.
- Bate M. The dog as an experimental animal. *ANZCCART News [Internet]*. 1997 [Consultado el 11 de marzo de 2015]; 10 (1): 1-8. Available in: http://www.adelaide.edu.au/ANZCCART/publications/TheDog_12Arch.pdf
- Garcés LF, Giraldo C. Bioética en la experimentación científica con animales: cuestión de reglamentación o de actitud humana. *Revista Lasallista de Investigación [Internet]*. 2012 [Consultado el

- 5 de marzo de 2015]; 91: 159-166. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69524955012>.
11. Mapara M, Thomas BS, Bhat KM. Rabbit as an animal model for experimental research. *Den Res J*. 2012; 9 (1): 111-118.
 12. Biological evaluation of medical devices-part 6: tests for local effects after implantation [Internet]. ISO 10993-6:1994 [accesado 15 de octubre de 2013]. Available in: <ftp://law.resource.org/ie/ibr/is.en.iso.10993.6.2009.pdf>
 13. Cook LJ. The dog as translational model for orthopaedic disorders. Orthopaedic Research Society, Annual Meeting Feb 2012. Available in: <http://www.ors.org/wpcontent/uploads/2012/02/Workshop-7-Handout.pdf>
 14. Huja SS, Fernández SA, Hill KJ, Li Y. Remodeling dynamics in the alveolar process in skeletally mature dogs. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2006; 288 (12): 1243-1249.
 15. Killkeny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Animal research: reporting *in vivo* experiments: the ARRIVE guidelines. *British Journal of Pharmacology*. 2010; 160 (7): 1577-1579.
 16. Albuquerque C, Morinha F, Requicha J, Martins T, Dias I, Guedes-Pinto H et al. Canine periodontitis: the dog as an important model for periodontal studies. *The Veterinary Journal*. 2012; 191 (3): 299-305.
 17. Patronek GJ, Waters DJ, Glickman LT. Comparative longevity of pet dogs and humans: implications for gerontology research. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997; 52 (3): 171-B178.
 18. Duffy LD, Serpell AJ. Center for the interaction of animals and society, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania. Non reproductive effects of spaying and neutering on behavior in dogs, proceedings of the third international symposium on non-surgical contraceptive methods for pet population control [Internet]. 2006 [consultado mayo 2013]. Available in: <http://www.saveourdogs.net/wp/wp-content/uploads/2010/10/Aggression-and-spay-neuter-in-dogs.pdf>
 19. Kustritz R. Effects of surgical sterilization on canine and feline health and society. *Reprod Dom Anim*. 2012; 47 (suppl. 4): 214-222.
 20. Reece WO. *Dukes' physiology of domestic animals*. 12th edition. San Diego: Cornell University Press; 2004: pp. 621-742.
 21. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest*. 2006; 116: 1186-1194.
 22. Ohlsson C, Börjesson AE, Vandenput L. Sex steroids and bone health in men. *BoneKey Reports* 1. 2012; 2. doi:10.1038/bonekey.2012.3
 23. Belic M, Kusek V, Ante S, Juraj G, Mirna R, Zoran V et al. The influence of sex on biomechanical markers of bone turnover in dogs. *Research in Veterinary*. 2012; 93: 918-920.
 24. Morris TR. *Experimental design an analysis in animal science*. New York, NY: CABI Publishing; 2002: pp. 31-41.

Correspondencia:

C.D. Gilberto Valenzuela Vásquez

E-mail: gil_valenzuela@yahoo.com