



Utilización de Modelos animales en investigación del Cáncer

Marcelo Fernández Lomónaco ^a.

a) Laboratorio de Experimentación Animal del Centro de Investigaciones Nucleares Facultad de Ciencias. Universidad de la República. URBE Unidad de Reactivos

y Biomodelos de Experimentación Facultad de Medicina. Universidad de la República.

Resumen

Paralelamente con el desarrollo del conocimiento de las diferentes fisiologías y patologías en el área humana y animal, se descubrieron y/o crearon modelos animales, que resultaron ser una herramienta fundamental para el conocimiento y comprensión de la fisiología, la patogénesis de diferentes enfermedades y las posibles terapias. El siguiente trabajo tiene como finalidad hacer una breve reseña sobre los modelos animales en experimentación e investigación del cáncer, su definición, clasificación, los pro y los contra sobre su utilización, el manejo de los animales así como el monitoreo de los mismos, aspectos éticos y criterios de punto final.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de las ciencias médicas y biológicas va de la mano con el desarrollo de la ciencia de los animales de laboratorio, más comúnmente conocida como experimentación animal. La experimentación animal es una actividad que tiene como misión evidenciar o aclarar fenómenos biológicos sobre especies animales determinadas. Pero también como todo acto experimental o científico, que entrañe al estado de bienestar del animal debe tratar de evitar o disminuir en lo posible causar dolor, sufrimiento, angustia o agravio.

El por qué de la elección o uso de los roedores como modelos de investigación en cáncer.

Los roedores de laboratorio son las especies más utilizadas no solo en área oncológica sino en el estudio de infinidad de patologías. Existen dos ideas básicas: la primera es que la interpretación de los resultados y la extrapolación de estos de una especie a otra dependen del modelo experimental utilizado; ésta sería la noción de competencia o actuación, es decir de que fenómenos se trata y cómo los queremos explicar. La segunda idea es que no existe un modelo perfectamente extrapolable al hombre, pero puede haber una infinidad de modelos experimentales cuyas respuestas

fragmentarias, al converger, incrementen la significación biológica del fenómeno observado. En este sentido el modelo animal experimental debe reproducir un efecto proveniente del sujeto original, poseer una estructura, una lógica propia y realizar actos determinados. Los diferentes tipos de modelos se establecen sobre la base de la multiplicidad de especies zoológicas, sistemas metabólicos y fisiológicos, malformaciones espontáneas, mutaciones patológicas obtenidas por selección y patologías provocadas o experimentales. Festing en 1987 ha descrito más de 4500 modelos de animales de laboratorio en el mundo, y el número se ha incrementado sustancialmente con la aparición en el último decenio de los animales transgénicos e inmunodeprimidos.

Si bien los resultados obtenidos en los animales de laboratorio no son directamente extrapolables al humano, ofrece una serie de ventajas como ser:

1. El tratarse de un mamífero, salvando las diferencias lógicas, gran parte de los procesos bioquímicos y fisiológicos son muy similares.
2. Tiene un tiempo generacional muy corto y un alto índice reproductivo, su talla es pequeña y son relativamente dóciles.

Recibido: Junio 2012

Aceptado: Agosto 2012

3. Se puede controlar con relativa facilidad las variables ambientales, más precisamente el macro y microambiente, fundamentales para el desarrollo correcto de los experimentos, permitiendo su fácil reproductividad, su mantenimiento en cautiverio es fácil y económico.

4. Dentro de los mamíferos, junto con la especie humana es de las más estudiadas.

5. Existe una gran cantidad de líneas definidas genéticamente, como las consanguíneas y congénicas además de cientos de mutaciones y un gran número de rearreglos cromosómicos disponibles, podemos producir líneas de individuos genéticamente idénticos.

6. Se conocen los mapas genéticos así como la secuencia completa del genoma; al publicarse el primer mapa detallado del genoma del ratón se halló que al menos el 80% del ADN de los ratones es idéntico al de los humanos. (1)

TIPOS DE MODELOS

Por implantación de células, se obtendrán xenotransplantados o alotransplantados. En el primer caso se inoculan líneas celulares tumorales de origen humano y para ello es indispensable usar animales genéticamente modificados o mutados, para evitar el rechazo del tumor, que por lo general son organismos inmunodeprimidos.

La definición médica de xenotrasplante es el trasplante de órganos, tejidos o células de una especie a otra. A diferencia de los primeros encontramos los modelos alotransplantados en los que se le introducen células tumorales de origen murino.

Existe un abanico enorme de modelos murinos para el estudio experimental del cáncer, abarcando distintas cepas consanguíneas, mutaciones espontáneas, ratones transgénicos y Knock-Out (KO). Las ventajas más importantes que ofrecen estos modelos es la posibilidad de estudiar el efecto de las mutaciones que predisponen al cáncer en un fondo genético uniforme y la posibilidad de llevar a cabo todo tipo de estudios básicos y ensayos terapéuticos in vivo.

Modelos generados por inoculación de sustancias químicas, como por ejemplo la N Nitroso Metil Urea, que genera cáncer de mama.(1, 2)

LA PRODUCCIÓN DE TUMORES EN RATONES Y RATAS

Tanto la generación como la implantación tumoral en los animales de investigación son actividades experimentales de vital importancia que requieren la consideración del efecto del tumor o tumores en el animal. Es importante también implementar sistemas eficaces de vigilancia y criterios de punto final los cuales deben incluir los límites de la carga tumoral en sí y la gravedad de la enfermedad asociada al tumor. Es importante para ello el estudio de las posibles alteraciones fisiológicas, bioquímicas, y de los biomarcadores que se proponen como o potencialmente más objetivos y reproducibles que los signos clínicos.

Estas pautas tiene como fin el de limitar la carga tumoral de un animal experimental para que no le cause dolor o angustia excesiva, además vigila lo que es la carga acumulativa de tumor por animal. Si el protocolo requiere una carga múltiple de tumores, la misma no puede exceder los parámetros que se indican a continuación. (3).

DIRECTRICES

Producción e implantación de los tumores:

Subcutáneo o intradérmico: los mismos deben ser inoculados en lugares donde no interfieran con las funciones normales del cuerpo, como ser los movimientos, el alimentarse o tomar agua, la defecación y/o la micción. Los sitios recomendados para la inoculación son la región escapular o en el flanco, ya que en principio son los lugares donde causan menores molestias. Están contraindicados sitios relacionados con los órganos de los sentidos. La inyección intramuscular no es recomendada por la posterior distensión muscular con el consiguiente dolor. Mayor atención se debe tener si se usan múltiples sitios de inoculación. Está contraindicado la implantación de más de cuatro tumores por animal.

En modelos metastásicos tumorales se deben evaluar además todos los posibles efectos adversos producidos por la metástasis en sí y los métodos propuestos para controlar la gravedad (ej. anestesia, analgesia, etc.). Así como la definición e implementación de criterios de punto final humanitarios.

Tamaño tumoral:

Un observador debe realizar todas las mediciones de tumores en un estudio determinado, y esa sola persona debe cumplir estas maniobras siempre. Deben usarse calibres con el fin de evitar discrepancias. El tamaño tumoral no debe exceder los 20mm (2.0 cm) en el diámetro más largo en los ratones y 40 mm (4.0 cm) en las ratas. Tumores más grandes deberían justificarse en el protocolo experimental elevado a los respectivos comités de ética. Pueden también aparecer limitantes de salud en el animal previo al alcance del tamaño máximo tumoral, como ser restricción del movimiento, imposibilidad de llegar a los accesos de agua o comida, aumento de la presión o compresión interna de órganos o en lugares sensibles o el llegar a un puntaje bajo en el BCS (Body Condition Score) < 2. Animales que presenten signos tales deben ser sacrificados independientemente de que se llegara o no al tamaño tumoral máximo permitido. (7, 8).

MONITOREO

Además de las observaciones mediciones y / o palpación será necesario vigilar de deterioro del estado clínico. Técnicas especiales de exámenes pueden ser necesarias para sitios específicos (por ejemplo, tasa respiratoria de la afectación pulmonar, trastorno neurológico de los tumores cerebrales, y recuento de células sanguíneas).

Registros y seguimiento:

Los ratones y ratas con tumores en vías de desarrollo, deben ser observados por lo menos tres veces a la semana hasta que un nódulo tumoral sea palpable, (5-7.5mm de diámetro), luego se debe implementar un seguimiento diario.

Si los tumores se encuentran en una ubicación que no es palpable, un programa de monitoreo debe ser establecida con base en estudios piloto. Los estudios piloto se pueden utilizar para familiarizar al investigador de los animales con los posibles efectos adversos y para definir la escala de tiempo crítico de los efectos adversos. Las características que debe tener en cuenta son el sitio del tumor, la tasa de crecimiento, la invasión, la distensión, la ulceración, la metástasis y la producción de factores caquéticos.

Si el crecimiento del tumor es rápido en los días previos a la terminación, puede necesitarse el doble de la supervisión diaria. (6)

VARIABLES Y SIGNOS CLÍNICOS OBSERVABLES QUE PUEDEN ESTAR ASOCIADOS CON LA PROGRESIÓN DEL TUMOR SON:

Apariencia general, incluidos los ojos opacos o de cierre.

Disminución de la ingesta de los alimentos / agua.

Deshidratación.

Pérdida de peso (evaluar por el peso) y / o condición corporal (BCS, por su sigla en inglés).

Depresión de la actividad, inquietud o agresión anormal.

Vocalizaciones o dificultad respiratoria.

Deformidad craneal / signos neurológicos.

Pelo áspero y / o postura encorvada lordosis, xifosis.

Patología de piel, pelo irsuto.

Restricción de la movilidad.

Cambios en las heces / orina y / o suciedad perianal.

Agresión y cambios en la conducta.

Descargas oculares y nasales.(7, 8).

CRITERIOS DE PUNTO FINAL

El bienestar general del animal tiene prioridad sobre las mediciones precisas de tumores en las decisiones relativas a las intervenciones de la eutanasia o de otra índole. Los tumores inducidos en las cavidades del cuerpo (cráneo, órbita, el abdomen o el tórax) pueden tener limitaciones adicionales en cuanto al tamaño máximo aceptable. Estos animales deben ser monitoreados muy de cerca por cualquier deterioro grave de la función fisiológica o neurológica y ser sacrificados tan pronto como tales signos se hacen evidentes.

Animales portadores de tumores que presentan estos signos deben ser sacrificados según la gravedad de los síntomas clínicos:

BCS <2, atrofia muscular o emaciación

Hipotermia

Descarga de sangre o mucopurulenta de cualquier orificio.

Dificultad respiratoria, sobre todo si se acompaña de secreción nasal o cianosis. Tumores ulcerados, la ulceración puede ser aceptable para algunos tumores de la piel. Esta condición y el tratamiento debe ser discutido en el protocolo.

Distensión abdominal significativa.

Incontinencia, falta de apetito o diarrea prolongada (9,10).

SUMMARY

Along with the development of knowledge about different physiologies and pathologies in the human and animal areas as well, it has been discovered and/or created animal models. These models have become a fundamental tool for the knowledge and understanding of the physiology and pathogenesis of different disorders and possible therapies. The following paper intends to present a brief description of animal models in cancer experimentation and investigation, its definition, classification, the benefits and shortcomings of their utilization, animal handling as well as their monitoring, ethical aspects and endpoint criteria.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Benavidez F, Genet JL. Modelos murinos de enfermedades humanas. *Medicina* 2001; 61(2): 215-231.
- (2) Euhus, et al. Tumor Measurement in the Nude Mouse. *Journal of Surgical Oncology* 1986; 31:229-234.

- (3) Attia M, Weiss DW. Immunology of Spontaneous Mammary Carcinomas in Mice V. Acquired Tumor Resistance and Enhancement in Strain A Mice Infected with Mammary Tumor Virus. *Cancer Research* 1966; 26 (8 part 1), 1787-1800.

- (4) Foltz, Charmine J. et al. Guidelines for assessing the health condition of mice. *Lab Animal* 1999; 28 (4): 28-32.

- (5) Irwin S. Comprehensive observational assessment: In: A systematic, quantitative procedure for assessing the behavioral and physiologic state of the mouse. *Psychopharmacology* 1968; 13:222-257.

- (6) Morton, DB. A Systemic Approach for Establishing Humane Endpoints. *ILAR J* 2000; 41(2):80-86.

- (7) Public Health Service. Policy on humane care and use of laboratory animals. Olaw, 2002. Disponible en: <http://grantsl.nih.gov/grants/olaw/references/phspol.htm> [Consulta: 30/07/2012].

- (8) Tomasovic SP, Coghlan LG, Gray KN, et al. IACUC Evaluation of Experiments Requiring Death as an End Point: A Cancer Center's Recommendations. *Lab Animal* 1988; 17(1):31-34.

- (9) United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research. Guidelines for the Welfare of Animals in Experimental Neoplasia. *British Journal of Cancer* 1998; 77 (1): 1-10.

- (10) Wallace, J. Humane Endpoints in cancer research. *ILAR J* 2000; 41(2): 87-93.