



Universidad de Buenos Aires



Facultad de Ciencias
VETERINARIAS
Universidad de Buenos Aires

Carrera de Técnicos Para Bioterio
Técnicas para Bioterio I

El Animal de Laboratorio Como Reactivo Biológico

Autores: Med. Vet. Federico A. Gullace
Veterinario Eduardo D. Caturini

INTRODUCCION

1. Concepto de animal de laboratorio como reactivo biológico:

¿Qué se busca cuando se usa un animal en investigación, estudios farmacológicos, toxicológicos, etc.? Se busca una “Respuesta Biológica”. Como debe ajustarse a las condiciones del Método Científico, esa respuesta debe ser estable y reproducible en cualquier parte del mundo, en las mismas condiciones experimentales. Surge entonces el concepto que el Animal de Laboratorio es un “Reactivo Biológico” que al igual que un Reactivo Químico debe FABRICARSE / CRIARSE, ALMACENARSE / MANTENERSE y USARSE en condiciones estandarizadas para asegurar la estabilidad de la respuesta; siempre dentro de los límites de lo biológico que no son tan exactos como los matemáticos.

Esa Respuesta Biológica es la expresión de la carga genética del animal, en interacción con el medio ambiente, la sanidad y la nutrición.

Decimos que es la expresión de la carga genética porque los millones de reacciones químicas que se hacen en el animal y que llevan a una respuesta determinada, están codificadas en el ADN de esa especie. Pero esas respuestas básicas pueden ser alteradas por condiciones exteriores (Alimentación, Estabilidad del Medio Ambiente) o interiores (estado sanitario de los animales).

Un ejemplo sencillo: si trabajamos en el desarrollo de un fármaco de acción respiratoria y usamos animales que sin saberlo nosotros tienen una enfermedad pulmonar, los resultados no van a ser fieles porque el aparato respiratorio no está sano. Lo mismo vale para cualquier órgano o sistema.

Cuando uno elige un reactivo químico, analiza el grado de pureza que necesita según el uso que le va a dar. Con el animal ocurre exactamente lo mismo.

O sea que las buenas prácticas en el uso de animales de experimentación comienza desde el proceso mismo de la FABRICACIÓN o sea la CRÍA

Una vez “Fabricado”, ¿cómo lo almacenamos? Aquí entra hay que considerar el primero de los factores externos que dijimos influenciaban la respuesta biológica de base genética: el MEDIO AMBIENTE. Debemos considerar dos ambientes: el Macroambiente constituido por el local donde están alojados los animales y el Microambiente que son las jaulas con el material de lecho y la carga animal.

Desde hace siglos se trabaja con animales vivos en investigación.

A lo largo del tiempo se han cometido muchísimas barbaridades que, como todo exceso, hizo que se respondiera con otro exceso que fue criticar todo experimento que se hiciera

con animales vivos. A este grado extremo de proteccionismo se le responde con el argumento que en algún momento es inevitable usar animales antes de que la investigación pueda continuarse con seres humanos. Existe un Comité internacional que depende de la OMS, el que estableció en 1983 los **Principios Internacionales para la Investigación Biomédica con Animales** algunos de los cuales son los siguientes:

El avance del conocimiento y la protección de la salud y bienestar humanos requieren de la experimentación con animales vivos.

Siempre que se pueda se deben usar antes que animales vivos, modelos matemáticos, simulación por computadora o sistemas biológicos in vitro como cultivo celular.

Sólo hacer experimentación animal después de analizar si es realmente relevante el trabajo.

Usar la especie y la calidad adecuada de animales a fin de reducir el número necesario al mínimo.

Debe evitarse o minimizarse el desconfort, la aflicción y el dolor como imperativo ético.

Hay que suponer siempre que procedimientos que son dolorosos para el hombre, también causan dolor a otros animales.

Cuando haya que realizar alguna maniobra que produzca dolor debe hacerse bajo analgesia o anestesia adecuadas. Nunca usar relajantes musculares o paralizantes, que no evitan el dolor sino que impiden que el animal lo manifieste.

Cuando no se puedan usar estos analgésicos o anestésicos porque interferirían en el trabajo, la decisión de hacerlo debe ser tomada por un Comité de especialistas, después de analizar si el trabajo es lo suficientemente trascendente. En nuestro país no lo hay. Nunca usar este tipo de procedimientos solo para enseñanza o demostración.

Al terminar el experimento, los animales que deben sacrificarse deben serlo por métodos indoloros.

Brindar todo el bienestar posible a los animales alojados en los Bioterios.

Es responsabilidad del Director del establecimiento o grupo de investigación que estos principios se cumplan.

Una muy buena opción para tomar como Buena Práctica en el trabajo con animales es seguir la llamada Regla de las 3 Rs ideados por Russell y Burch en 1959.

Reemplazo

Reducción y

Refinamiento, pudiendo agregarse una cuarta que es

Racionalización

REEMPLAZO de animales por:

- cultivos de tejidos y células
- microorganismos o animales inferiores en la escala zoológica (insectos, bacterias, etc.)
- sistemas fisicoquímicos mimetizantes de funciones biológicas
- simulación por computadoras
- modelos matemáticos

REDUCCIÓN del número de animales sin que disminuye la precisión de la experiencia:

- usando animales de buena calidad genética, sanitaria y ambiental lo que lleva a la menor dispersión de datos y por lo tanto menor número de animales.
- usando como límite en el uso de drogas el test DL50
- coordinación entre distintos departamentos para trabajar en conjunto
- crear o recurrir a banco de datos, publicando los resultados negativos para no repetir experiencias negativas.
- exhaustivo análisis bibliográfico previo para mejorar el diseño y no repetir experiencias.
- usar una metodología estadística adecuada.

REFINAMIENTO de las técnicas para reducir dolor y discomfort

- perfeccionando los métodos para detectar dolor
- usando analgésicos, anestésicos y tranquilizantes.
- usando en lo posible técnicas no invasivas o telemétricas
- usando métodos de diagnóstico para detectar el deterioro orgánico de los animales
- aplicar eutanasia anticipada.

RACIONALIZACION ya que las técnicas e investigaciones deben ser tan importantes en la satisfacción de las necesidades reales del hombre como para que se justifique el uso de animales.

2. Clasificación de los animales de laboratorio de acuerdo con su carga microbiológica:

- Los animales de laboratorio se clasifican según la presencia o ausencia de microorganismos.
- ¿De qué depende esto?
- Se normatiza y estandariza el uso y la acreditación de estos animales.
- Se toma conciencia que hay distintas clases de animales.
- La categoría depende de:
 - a) la infraestructura edilicia
 - b) las instalaciones
 - c) las barreras sanitarias
 - d) el personal

Clasificación sanitaria: (actual)

Indefinidos: FN, Z, V, B, H, P.

Son aquellos animales que se crían y mantienen en sistemas abiertos, están contaminados, transmiten zoonosis, sin controles microbiológicos y sin barreras.

Convencionales: FN, V, B, H, P, *

Son aquellos que se crían y mantienen en sistemas abiertos, que se encuentran libres de zoonosis, con perfil microbiológico y con algunas contaminaciones.

SPF: FN, **, ***, ****

Son animales que están libres de MO y parásitos específicos pero no necesariamente de otros no especificados. Se mantienen en instalaciones bajo barreras sanitarias, y se controlan de manera de poder acreditar tal condición.

GF: (axénicos) *****

Son animales en los que no se puede detectar ningún MO por los métodos hasta ahora conocidos. Se producen por histerectomía y se mantienen en regímenes cerrados bajo un sistema de barreras absolutas (en aisladores, totalmente estéril).

Gnotobióticos: (gnotoaxénicos)

Son aquellos animales GF que se han puesto en contacto con uno o más cultivos puros, o sea que su carga de MO es conocida. Se los denomina mono infectados a aquellos que están infectados solo con un microorganismo.

3. Categorías de animales de laboratorio:

Vamos a recordar las Categorías en que se clasifica a los animales de acuerdo a su nivel sanitario.

Categoría 1: se ubican a aquellos animales tradicionalmente llamados convencionales, que no están mantenidos con ninguna barrera de protección.

Se les exige estar libres de evidencia clínica de enfermedad infecciosa, especialmente las transmisibles al hombre, tanto al examen clínico como postmortem. Se hace especial hincapié, en todas las salmonelas y shigelas, Mycobacterium tuberculosis, Pasteurella pseudotuberculosis, hongos patógenos y Sarcoptes scabiei.

Categoría 2: agrupamos a animales convencionales mantenidos bajo barreras sanitarias.

A las exigencias de la Categoría 1 sumamos todos los estados intermedios de Cestodes y artrópodos parásitos, el virus de la ectromelia en el ratón y la mixomatosis en el conejo.

Categoría 3: se exigen animales libres de Bordetella broquiséptica, todas las pasteurellas, todos los micoplasmas (excluyendo a los hamsters y cobayos), todos los coccidios y helmintos patógenos, streptobacillus moniliformes en ratones y ratas, Corynebacterium muris en ratones, todos los neumococos en cobayos y conejos y sífilis en conejos.

Categoría 4: comprende a los animales SPF o sea Libre de Gérmenes Patógenos Específicos. A las exigencias anteriores se suman todos los neumococos, helmintos y protozoos patógenos, Klebsiella pneumoniae, Listeria monocytogenes, todos los micoplasmas en hamsters y cobayos y el Bacillus fusiformis necrophorus en conejo.

Las ventajas son: mayor probabilidad de sobrevivida y mayor producción por no tener enfermedades debilitantes.

Son especialmente indicados para experiencias crónicas, con mucha menor incidencia de muertes espontáneas.

Categoría 5: Gnotobióticos. Son los que tienen una flora bacteriana o vírica conocida.

Categoría 6: Axénicos o totalmente libre de gérmenes.

Usos:

- Estudios de digestión química de dietas. Fuente de órganos y tejidos para cultivos celulares.
- Acción de flora intestinal humana sobre fármacos.
- La reducción en la variedad de antígenos presentes sirve para el estudio de los mecanismos de defensa.
- Estudios etiológicos puros de determinados gérmenes, evitando la suma de efectos por asociaciones bacterianas.
- Producción de antisueros mucho más puros y específicos.

4. Modelos para experimentación

El tema de los Modelos Animales es tan amplio como innumerables son los campos de la investigación biomédica.

No podemos suponer, por lo tanto, que para tal diversidad temática resulten suficientes los que podríamos llamar modelos clásicos (rata, ratón y conejo).

Se han ido incorporando a lo largo de los años especies no tradicionales.

Por supuesto, es obvio decir que quien encare un proyecto de investigación deber previamente hacer una profunda investigación bibliográfica que lo oriente hacia el modelo más adecuado.

Principalmente podemos dividir los modelos animales empleados en cuatro grandes grupos:

- Espontáneos
- Inducidos
- Negativos
- Huérfanos

***ESPONTÁNEOS (o no manipulados)**

En ellos la o las variables a investigar aparecen en forma natural, a partir de la variabilidad genética expresada en una determinada línea animal. Generalmente se obtienen por selección de aquellos animales consanguíneos o genéticamente uniformes.

Ej: ratón nude (no presenta timo), ratas Wistar-Kyoto, ratas hipertensas (SHR), etc.

***INDUCIDOS (provocados experimentalmente)**

- *Por administración de sustancias biológicamente activas*

Ej: diabetes por aloxano.

- *Por manipulación quirúrgica*

Ej: hepatectomía parcial para regeneración hepática.

- *Por inducción basada en dietas modificadas*

Ej: hiperlipidemia o hipovitaminosis.

- *Por inducción debida a cambios etológicos*

Ej: modificación de factores sociales o del entorno que provocan cambios en el comportamiento.

- *Por manipulación genética*

Ej: transgénicos y knockout.

***NEGATIVOS (resistentes a enfermedades)**

Son aquellos en los cuales una determinada variable no se desarrolla o no se expresa.

Ej: algunas razas de conejos resistentes a gonococos.

*HUÉRFANOS

Expresan una determinada variable hasta ahora no conocida o expresada en la especie humana, pero, si en un futuro apareciera dicha variable también en humanos, esos modelos animales huérfanos se “adoptan” y pasan a alguna de las categorías anteriores. Ej: enfermedad de Marek, enfermedad de la “vaca loca”, etc.

Veamos primero de algunos principios generales para la elección del modelo animal. Luego veremos las características más importantes de las especies y cepas más comunes.

Elección del Modelo

Una secuencia lógica de trabajo sería:

- Elección de la especie
- Selección de la cepa
- Selección del tipo de estructura genética, dada por el sistema de cría (endo o exocría).
- Selección de la calidad del animal basándonos en el status sanitario.

- Elección de la especie:

El factor más importante a tener en cuenta es probablemente la naturaleza de la población a la que va dirigida la investigación.

Si va dirigida a una especie en particular, como sucede principalmente en Veterinaria, la elección es obvia: se usa directamente esa especie. Sin embargo podría ser útil en una primera etapa, por ejemplo para la puesta a punto de técnicas, entrenamiento del personal o bien para sacar datos preliminares, hacer una primera experiencia en roedores de laboratorio y luego pasar a especies mayores.

Pero cuando los resultados de la experiencia deben extrapolarse al hombre, la elección no es tan sencilla. En algunos casos puede ser necesario el uso de más de una especie, en una secuencia lógica, avanzando en el proyecto si los resultados son satisfactorios en cada etapa.

En este tipo de estructura de trabajo, el ratón, la rata y otros pequeños roedores son útiles en ensayos preliminares, siendo luego necesario pasar a especies más evolucionadas como el perro o el mono.

Qué características deben tenerse en cuenta para la elección de la especie?

- Tamaño: es muy importante porque determina en parte el costo del animal, el espacio físico necesario y está relacionado con la facilidad de las maniobras experimentales. Así en escala, tenemos como los más adecuados a los pequeños roedores y en nivel de mayor dificultad a los animales de granja.

Claro que en este caso, el criterio es algo diferente y no es común trabajar con animales grandes estabulados, es decir confinados. Por lo general, en la investigación veterinaria en nuestro país, se trabaja con animales a campo, en su hábitat natural y en las condiciones habituales de manejo sanitario y nutricional para la zona geográfica.

Por eso es muy importante con este sistema, obtener primero lo que llamaríamos valores normales o basales para esa zona en particular.

Para trabajar con especies mayores confinadas, es muy útil el cerdo miniatura.

- Productividad: influye mucho en los costos. Puede variar incluso dentro de una misma especie, siendo una característica propia de ciertas razas o cepas. Lo más característico es que las cepas endocriadas son menos productivas, observándose menor índice de preñez y menor cantidad de crías por parto.

- Período de vida adecuado: es muy importante sobre todo tratándose de experiencias de larga duración.

- Ausencia de enfermedades: difíciles de controlar o que sean transmisibles al hombre. Este problema se soluciona al trabajar con SPF o bien con controles periódicos de la calidad sanitaria.

- Características fisiológicas de determinados sistemas u órganos: Por ejemplo no trabajar con glándula tiroides en el conejo, ya que en esta especie es hipoplásica.

- Susceptibilidad a fármacos: por ejemplo no trabajar con penicilina en cobayos.

- Fidelidad de la respuesta: entendiéndose por esto uniformidad de respuesta.

Influyen dos factores principales:

a) Ambiente: en el que mantendremos a los animales. Este debe tener condiciones óptimas y estables de temperatura, humedad, iluminación, higiene, tranquilidad, nutrición, etc.

Estos factores influyen en mayor o menor grado sobre la respuesta final. Pero tengamos en cuenta que aún teniendo los mejores animales disponibles, no obtendremos respuestas uniformes en un medio ambiente inadecuado o cambiante.

b) Uniformidad en el genotipo: lo que está dado por el tipo de cruzamiento y por consiguiente el grado de homo o heterocigosis.

Si logramos fidelidad o uniformidad de respuesta lograremos también la reproducibilidad de los resultados, fundamental para la validez científica del trabajo.

- Selección de la Cepa o Línea genética:

Puede ser más o menos difícil, dependiendo del tema de trabajo.

Hay cepas con características muy definidas que las hacen fácilmente elegibles para ciertos proyectos. Por ejemplo: ratas hipertensas, ratones obesos, diabéticos, enanos, etc.

En otros casos no existe un factor decisivo en la elección y muchas veces deberemos guiarnos por experiencias similares de otros investigadores.

- Sistema de cruzamiento:

Que va a dar la estructura genética de los animales.

La pregunta sería: qué usamos, una cepa endo o exocriada?

Para responderla debemos tener una idea de la influencia de los factores genéticos en nuestro campo de trabajo. Cuanto mayor influencia tengan, más indicadas estarán las cepas endocriadas.

Probablemente lo mejor sería no trabajar sobre un único tipo de estructura genética, sino ampliar el modelo sacando así mayor información.

De todas maneras, en algunos casos es indispensable la endocria: transplante de órganos, implantes tumorales, etc.

Mientras que en otros la homocigosis es indeseable, p.ej.: en ensayos farmacológicos; porque acá predomina el concepto de población blanco o "target".

Si la droga va destinada a una población humana o animal heterocigota serán extrapolables los resultados obtenidos en poblaciones con más del 98% de genes homocigotas? Al respecto siguen las discusiones.

Por otra parte cuando hablamos de cepas endocriadas nos referimos prácticamente a los pequeños roedores de laboratorio ya que en otras especies mayores es difícil llegar a un alto grado de homocigosis sin que aparezcan genes letales.

- Nivel sanitario:

Luego de elegida la especie, cepa y tipo de cruzamiento debemos decidir sobre el status sanitario qué vamos a exigir para nuestros animales.

Está bien establecido que el uso de animales SPF disminuye sustancialmente el número de animales necesarios para cada experiencia, sobre todo en las crónicas, donde la mortalidad por causas no atribuibles a la experiencia disminuye notablemente.

Por supuesto que para llegar a los niveles más altos de clasificación es necesario desarrollar técnicas de trabajo sofisticadas.

Pero lo que es tan importante como esto, es realizar los controles sanitarios periódicos.

El próximo problema a solucionar es la provisión del animal elegido. Y no es un problema de fácil solución.

Quedarían dos posibilidades:

1) Adquirir un lote o colonia madre para iniciar la cría propia. Esto depende principalmente de las necesidades en cuanto al número de animales y la duración de la experiencia. La compra de animales a un centro de referencia puede parecer

En primera instancia “caro”. Pero un Bioterio con cría de animales implica mayores gastos que uno sólo de mantenimiento. Tal vez resulte más práctica la provisión de animales según las necesidades.

2) Si se decide esto, es muy importante verificar las condiciones en los que esos animales son mantenidos en el Bioterio proveedor. Si no poseen recomendaciones confiables de otros usuarios, el consejo es que visiten al productor, para interiorizarse de ciertas pautas de manejo que hacen a la confiabilidad: origen de las cepas, sistemas de registros, dietas que consumen, barreras sanitarias, controles bacterianos y parasitológicos, etc.

Una vez aceptado el proveedor y adquirido los animales, debe continuarse con esa fuente hasta la terminación de la experiencia. No sólo no debe cambiarse de cepa durante un ensayo sino que tampoco debería cambiarse la fuente proveedora.

Vamos a enumerar ahora algunas características generales de las especies comunes de animales de laboratorio, que pueden orientarlos hacia la elección de un modelo animal. Vamos a empezar al revés, dejando para el final a la rata y el ratón.

MONO: es evidente que presenta características anatómicas, fisiológicas, psicológicas y de susceptibilidad a ciertas enfermedades comunes con el hombre.

Es por ello que resulta útil en toda investigación relacionada o dirigida finalmente al ser humano.

Desde los primeros estudios referidos a la toxicidad de los anestésicos inhalatorios, todas las investigaciones sobre el virus de la polio, los estudios hematológicos en los que se halló reacción cruzada entre los eritrocitos del mono y hombre (factor Rh), hasta los trabajos actuales en el campo de la endocrinología y reproducción, han hecho crecer la importancia del mono como modelo experimental.

Si quisiéramos ser más estrictos diríamos que cualquier experiencia dirigida al hombre, luego de usar otros modelos previos, debería ser evaluada en monos antes de las conclusiones.

Evidentes razones de practicidad y costos conspiran contra esto.

Se lo utiliza como modelo en por ejemplo:

- Enfermedades cardiovasculares: estrés, hipertensión.
- Enfermedades neurodegenerativas: Parkinson, Alzheimer, esclerosis múltiple.
- SIDA.
- Diabetes.
- Endometriosis.
- Biología reproductiva.

VACA, OVEJA Y CABRA: presentan interés en sí mismas. Son especies de investigación veterinaria por su valor agropecuario.

Además, las ovejas han sido estudiadas como modelos en:

- embriología y metabolismo óseo
- Circulación sanguínea fetal.
- Técnicas quirúrgicas y trasplantes.
- Encefalopatía espongiiforme.
- Enfermedad autoinmune renal.

Y los bovinos en la comprensión de la fisiología de la lactación y en el desarrollo del corazón artificial.

CERDO: son muy usados por su parecido anatómico gastrointestinal y de hábitos alimenticios para estudios de gastroenterología. De hecho y durante mucho tiempo fueron modelo casi exclusivos en la evaluación de los efectos de la dieta sobre los sistemas fisiológicos.

Es omnívoro, consume una dieta similar a la humana, mastica de la misma manera y con dientes similares a los humanos y comienza la digestión en un estómago simple que además, es susceptible a las úlceras.

Todo esto lo hace útil en los campos de investigación de:

- Metabolismo
- odontología
- radiaciones cutáneas
- deficiencias de vitaminas
- toxicología
- gastroenterología en general. Técnicas quirúrgicas y trasplantes de órganos (xenotrasplantes).
- Nefrología.
- Enfermedades cardiovasculares: aterosclerosis, hipercolesterolemia

También se lo usa mucho en cirugía cardiovascular experimental. Pero tienen el inconveniente del tamaño del animal adulto, muy grande en algunas razas, que dificulta su manejo y alojamiento. En EEUU y luego Inglaterra desarrollaron, a partir del cruzamiento de razas salvajes de cerdos, el que conocemos como "cerdo miniatura".

Hay varias líneas:

- el HORNEL, obtenido de la cruce del Cerdo de Guinea con el Jabalí de la Isla Catalina y el - PITMAN MOORE (Cerdo negro de Florida) cruzado por el PALOUSE que es un cerdo doméstico norteamericano.

El Laboratorio Charles River tiene dos "MARCAS REGISTRADAS" de cerdos enanos: MINIPIG Y MICROPIG que de adulto pesa aproximadamente 15 Kg.

PERRO: Representa un 1% de los animales utilizados en investigación. Comparte muchas patologías congénitas con el hombre y sería un buen modelo en por lo menos el 20% de enfermedades humanas.

Ha sido y es usado en:

- gastroenterología, porque su estómago relativamente pequeño y su tracto digestivo corto recuerdan al humano. Además su estómago es fácil de fistulizar.
- Es apto para cirugía cardiovascular experimental y diabetes tipo I.
- Es una de las especies de mayor grado de evolución que se usan para el desarrollo de nuevos medicamentos (etapa preclínica) - ensayos de toxicidad y carcinogénesis –
- Por las características de su sistema cardiovascular y su docilidad y predisposición a ser entrenado, es invaluable para trabajar en fisiología cardiovascular no traumática en animales no anestesiados.

GATO: son en la actualidad poco usados. Es un animal a veces difícil de manejar.

Se lo ha usado en:

- detección de reacciones histaminoides.
- Es modelo para trabajar en Sistema Nervioso Central. Su cerebro ha sido perfectamente mapeado para identificar y ubicar los centros nerviosos. En este aspecto tiene la ventaja sobre el conejo que su presión arterial es más estable, probablemente debido a la estructura de sus paredes venosas. Su membrana nictitante muy desarrollada es usada como indicador de estimulación intracraneal.
- Mediante la estimulación de áreas específicas del SNC se lo usa junto con el mono como modelo para el estudio del dolor crónico y en base a esto para el desarrollo de analgésicos y anestésicos. Esto es altamente cuestionable desde la bioética y el bienestar animal.
- Como característica metabólica presenta gran sensibilidad a los fenoles y gran facilidad para producir metahemoglobina, por lo que es modelo para testar la toxicidad de compuestos del tipo de la acetanilida y acetopentidina.
- Visión y oído.
- Comportamiento, aprendizaje y neurología.
- Oncología.
- Enfermedades infecciosas (Virus de la inmunodeficiencia felina)
- Diabetes tipo II.

COBAYO:

- es muy usado en inmunología como animal de elección para obtener complemento.
- Su naturaleza muy dócil y tranquila lo hace muy útil en todo lo que se refiera a consumo de oxígeno y metabolismo basal. Es 4 veces más resistente que el ratón y 2 veces más resistente que la rata a la hipoxia.
- Tiene estructuras auditivas muy sensibles por lo que es usado como modelo para oído.
- También por su sensibilidad a la anafilaxis y cualquier otra manifestación alérgica es modelo para inmunología y alergia.

- Hasta que se desarrollaron métodos analíticos más rápidos, fue usado en diagnóstico clínico siendo el modelo preferido para el aislamiento del Mycobacterium tuberculosis variedad hominis y bovis.
- Como característica metabólica: **no puede sintetizar Vitamina C** por lo que debe dársele pasto verde o verdura de hoja o Vit. C sintética, ya que si no desarrolla escorbuto.

HAMSTER: una de las características más importantes es la presencia de abazones o bolsas bilaterales en ambas mejillas que, por su gran vascularización las hace muy útiles en estudios de:

- Microcirculación e implante de tejidos cancerosos, ya que permite una visualización fácil de la evolución del tumor sin necesidad de entrar a ninguna cavidad.
- Bajo ciertas condiciones de nutrición y flora bucal desarrolla caries dentales, por lo que es modelo en odontología.
- También se puede usar en trabajos sobre hipotermia natural e inducida por su característica de hibernar en respuesta a las bajas temperaturas.
- Otra posibilidad de uso es para evaluar las respuestas inmunogenéticas en el tratamiento del cáncer con quimioterápicos.

CONEJO: los usos más comunes son en:

- cirugía experimental de ojo, mandíbula, cardiovascular, etc.
- estudios de hipertensión.
- Producción de anticuerpos
- para testear agentes embriotóxicos y teratogénicos.
- Debido a sus características reproductivas, ovulación inducida, gestación corta y fácil recolección de semen ha sido usado en el desarrollo de contraceptivos orales.
- Para la prueba de Piretógenos es modelo de elección.
- Se lo usa mucho en los test de irritación dérmica y ocular para el control de productos cosméticos y formas medicamentosas del tipo de colirios o pomadas.
- Por el buen tamaño del ojo es útil como modelo en oftalmología y transplante de tumores en esa zona por la gran vascularización.
- Aterosclerosis, cardiomiopatías, embolias.
- Vías respiratorias: enfisema, asma, fibrosis quística.
- Osteopatologías.
- Otitis media.
- Tumores renales.

RATA Y RATON: merecen un tratamiento especial. Ellos solos constituyen más del 90% del total de animales de laboratorio usados.

La mayoría de las cepas endocriadas de ratón fueron desarrolladas y estudiadas para usarlas como modelos en investigación de cáncer. Principalmente para probar la influencia de los factores genéticos y hereditarios en los diferentes tipos de cáncer.

En el transcurso de estas experiencias estas cepas fueron estudiadas en profundidad, llegándose a la conclusión que podían servir como modelos en muchísimas orientaciones de la investigación biomédica.

Se identificaron así una gran cantidad de enfermedades constitucionales de estas cepas, muchas de las cuales tenían paralelismo con patologías humanas, por lo que se las asimiló como modelos para investigar esas patologías en el hombre.

A modo de ejemplos rápidos podríamos mencionar:

- **Ateroesclerosis:** aparece más comúnmente en machos y hembras de las cepas BALB/cJ y SWR/J, localizándose principalmente en las arterias coronarias y secundariamente en las mesentéricas. Consiste en la deposición difusa de sales de calcio en la media de las arterias, mientras que la íntima y adventicia no están afectadas. La causa es desconocida.
- **Cálculos urinarios:** aparecen con alta incidencia en 129 cepas de ratones. Pero la uropatía obstructiva es una observación postmortem casi constante en los machos de la cepa STR/1N mayores de 16 meses de edad. Aparece bajo la forma de: a) cálculos de vejiga, b) oclusión hemorrágica de la uretra y 3) vesiculouretritis supurativa. Estas lesiones están determinadas genéticamente, no aparecen en hembras y son evitadas o prevenidas por la castración.
- **Glomeruloesclerosis o hialinización glomerular:** aparece en la cepa RF entre los 8 y 20 meses de edad. Se hacen más severas con la edad e histológicamente recuerda en el hombre a las lesiones glomerulares de la hipertensión, diabetes y lupus eritematoso.
- **Nefritis:** es común en ratones C57BL/6 de más de 450 días de edad. Mucho más común que en cualquier otra cepa (50 a 60% de los animales).
- **Diabetes insípida:** aparece en las cepas MA/J y MA/MyJ y se asocia a trastornos atróficos del lóbulo posterior de la hipófisis, con déficit de HAD.

Otros posibles modelos, ya para líneas bien específicas de trabajo son los mutantes de cepas de ratón, a veces de origen conocido y otras no tanto.

Vamos a ver pocos ejemplos.

- **OBESOS:** ob/ob recesivo. Es una mutación espontánea en un stock recesivo múltiple (INGALLS 1950). Los homocigotas se reconocen a las 4 semanas de edad cuando aumentan rápidamente de peso superando 3 veces el de sus hermanos normales. Las hembras son siempre estériles, pero los machos bajo ciertas condiciones de alimentación, pueden ser fértiles. La obesidad se debe a una marcada inactividad sumada a moderada hiperfagia. Son ligeramente hiperglucémicos, pero no por falta de insulina sino por insensibilidad a la misma.

- **ENANO:** (DWARF) Linaje desconocido. Los homocigotas tienen la 1/3 o 1/4 parte del tamaño normal y son estériles. Son enanos hipofisarios, debido a una deficiencia

simultánea de STH y tirotrófina, y se desarrollan y reproducen normalmente luego del transplante de hipófisis.

- DISTROFIA MUSCULAR: Aparece como una mutación espontánea en la cepa 129/Re. Los homocigotas presentan entre la 3a. y 4a. semanas debilitamiento y parálisis progresiva. La muerte ocurre generalmente a los 6 meses y son generalmente estériles.

- HIDROCEFALICO 3: apareció en un stock heterogéneo de ratones endocriados (GRUNEBERG, 1943).

- LUXOID: es semidominante. Apareció como mutación de C3H/He (GREEN, 1955) y presenta polidactilia y mayor número de costillas, vértebras y esternones.

- OLIGOSINDACTILISMO: caso contrario al anterior. Apareció como mutación inducida por irradiación con Rayos X. Consiste en la fusión del 2°, 3° y a veces 4° dedos de los 4 miembros.

- HAIRLESS: mutante recesivo de un ratón capturado en un gallinero en Londres en 1926. Los homocigotas tienen el manto normal hasta los 10 días, pero a partir de ahí comienzan a perder el pelo.

- ACONDROPLASICOS: aparecieron en la cepa AKR/J en 1960 y presentan un anormal crecimiento de las epífisis óseas.

Finalmente, vamos a hacer un breve recorrido por algunas cepas de ratones y ratas endocriadas, mencionando sus características más salientes sólo como ejemplo y teniendo en cuenta que hay centenares de cepas de ratones registrados.

RATON: Representa un 70% de los animales de investigación.

- CEPA A: en recién nacidos 5-10% de paladar hendido. En adultos alta incidencia de enfermedades renales.

- A/He: 74% de tumores mamarios en reproductores. Elevada susceptibilidad a los virus de la gripe y ectromelia.

- AKR: 70-90% de incidencia de leucemia de tipo linfático. Se lo usa además como modelo en experiencias relacionadas con procesos cardiovasculares.

- BALB/C: 26-29% de incidencia de tumores pulmonares. Se usa en genética, inmunología y oncología. Es muy sensible a la radiación.

- CBA: son muy longevos y algo resistentes a los cánceres de piel.

- RF: Presenta procesos degenerativos en individuos de edad avanzada. Produce leucemia si es irradiada.

RATAS: Representa un 22% de los animales usados en investigación.

- GH: hipertensión genética. Deriva de la WISTAR y es usada como modelo en hipertensión e hipertrofia cardíaca genética.
 - SHR: también es hipertensa y responde muy bien a la terapia específica. Es modelo en el estudio de drogas hipotensoras.
 - BUF: (BUFALO) es de alta mortalidad prenatal. Se la usa en inmunopatología, oncología y odontología por la alta incidencia de caries.
 - CAP: gran resistencia a las caries.
 - CAS: gran incidencia de caries.
-

CARRERA DE TECNICOS PARA BIOTERIO - UBA

Bibliografía

- Baker, H y otros.
THE LABORATORY RAT. ACADEMIC PRESS. 1979
- Foster, H y otros.
THE MOUSE IN BIOMEDICAL RESEARCH. ACADEMIC PRESS. 1983
- Fox, J y otros.
LABORATORY ANIMAL MEDICINE. ACADEMIC PRES. 1984
- F. J. Benavides; J.L. Guénet
MANUAL DE GENÉTICA DE ROEDORES DE LABORATORIO
Universidad de Alcalá , SECAL, Laboratory Animals Ltd. 2003
- J. ZUÑIGA, J. TUR MARI, S. MILOCCO, R. PIÑEIRO
CIENCIA Y TECNOLOGÍA EN PROTECCIÓN Y EXPERIMENTACIÓN ANIMAL.
Ed. Mc Graw - Interamericana. 1º ed. 2001
- Jesus ZUÑIGA
PRINCIPIOS DE LA CIENCIA DE ANIMALES DE LABORATORIO
Ed. L.F.M. VAN ZUTPHEN, V. BAUMANS, A.C.BAYNEN – 1º Ed. 1999 (ELSEVIER)
- Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council
GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS
National Academy Press, Washington, 1996.
- Poole T.B. (Ed.)
THE UFAW HANDBOOK ON THE CARE AND MANAGEMENT OF LABORATORY ANIMALS, 6th Ed. Longman Scientific and Technical, London, 1989.
- Castillo Menendez R.
ANIMALES DE LABORATORIO EN LAS INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS
Editorial Ciencias Médicas, La Habana, 1985.
- GUIDE TO THE CARE AND USE OF EXPERIMENTAL ANIMALS, VOL I y II
CCAC, Ottawa, Vol I, 2nd Ed., 1993; Vol II, 1984.