



Seminario de Biotecnología y Bioseguridad de OGM's

# "Modelos Utilizados en Investigación Biomédica"

**Consejo Consultivo Científico  
CIBIOGEM - CONACYT**

**Dr. Víctor Daniel Ladislao Garzón Cortés**  
Jefe de la Unidad de Modelos Biológicos  
Instituto de Investigaciones Biomédicas  
IIB-UNAM



# **"Modelos Utilizados en Investigación Biomédica"**





Historia del Uso de Animales para Investigación:  
Grecia, 400 años a.C.  
Corpus Hipocraticum Roma.  
Galeno, 130-201 d.C.  
Renacimiento Siglo XV...



# ¿Cómo definimos un animal de laboratorio?

1. Son animales reproducidos y producidos en condiciones controladas (unidades de manejo animal)
2. Sus cuidados y mantenimiento se realizan en un entorno controlado (presión, temperatura, humedad, etc.)
3. Los animales utilizados en investigación tienen que tener claros antecedentes genéticos y microbiológicos
4. Estos animales y sus parentales tienen que ser monitoreados en todas sus características genéticas

# Model Organisms

---

## *for Biomedical Research*



### Mammalian Models:



➤ Mouse



➤ Rat

### Non-Mammalian Models:

➤ *S. cerevisiae* (budding yeast)



➤ *D. discoideum* (social amoebae)



➤ *C. elegans* (round worm)



➤ *D. melanogaster* (fruit fly)



➤ *D. rerio* (zebrafish)



➤ *Xenopus* (frog)

### Other Model Organisms:



➤ *Arabidopsis*

- [Entire Site JAX® Mice](#)

[Jackson Laboratory](#)

- [Genetics & Healthcare JAX® Mice and Services](#)

### Mouse Cryopreservation, Recovery and Strain Submission

JAX is the global leader in cryopreservation and recovery. Harness our unmatched expertise in reproductive sciences while protecting your valuable strains and research.



[B6.129P2-Apo<sup>em1Unc</sup>/J](#)

Live

Stock No: 002052 | ApoE KO

- [Congenic Targeted Mutation](#)

Mice homozygous for the *Apo<sup>em1Unc</sup>* mutation show a marked increase in total plasma cholesterol levels that are unaffected by age or gender. Fatty streaks in the proximal aorta are found at three months of age. The lesions increase with age and progress to lesions with less lipid but more elongated cells, typical of a more advanced stage of pre-atherosclerotic lesion.



### Show only

- Immunodeficient  Inbred  Outbred  Hybrid  Genetically Engineered  
 Congenic

[11BHSD2 Mouse](#)

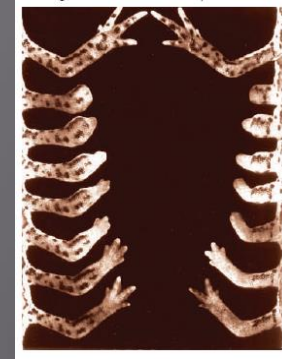
**Ideal For:** Cardiac hypertrophy, heart failure

- Genetically Engineered

**Bred In:** [US 129 Mice](#) **Ideal For:**

Transgenic/knockout model development, large number of unmyelinated axons in lumbar motor roots

# Modelos Animales



Regeneración de extremidades  
En salamandra  
Science (2007) 318: 772.

Espontáneos

Especie

Cepa

Mutaciones espontáneas

Mutaciones inducidas por radiación o químicamente

Inducidos o manipulados

Cirugía

Administración de sustancias

Modificación de la dieta

Cambios ambientales

Cambios en la conducta

Manipulación genética

# Un poco de historia...



En 1831 Marshal Hall propuso lo 5 principios que deben regir la experimentación animal:

1. No realizar un experimento si la información necesaria pudiera ser obtenida por observación.
2. No realizar un experimento sin un objetivo claramente definido y alcanzable, para minimizar conclusiones erróneas.
3. No repetir experimentos realizados con anterioridad. Tener información para evitar esto. Los resultados de todas las investigaciones realizadas deben ser publicados.
4. Realizar cualquier experimento necesario con la menor cantidad de dolor y sufrimiento posible. Él sugirió el uso de animales inferiores.
5. Cada experimento debe ser realizado bajo condiciones que garanticen resultados fiables y así evitar repeticiones.



# Las 3 R's de Russell y Burch (1959)

## 1ª R, Refinar:

- Técnicas de menor severidad
- Mínimas restricciones en las condiciones de mantenimiento
- Asepsia
- Socialización, habituación y condicionamiento

## 2ª R, Reducir:

- Métodos estadísticos
- Posible asesoramiento
- Reutilización de animales muertos

## 3ª R, Reemplazar:

- Consideraciones de métodos alternativos

## Fines de los experimentos



COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS

Bruselas, 5.11.2007  
COM(2007) 675 final

INFORME DE LA COMISIÓN AL CONSEJO Y AL PARLAMENTO EUROPEO

Quinto informe sobre las estadísticas relativas al número de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos en los Estados miembros de la Unión Europea

{SEC(2007)1455}

# Modelo animal en procesos de investigación.

Uno de los objetivos principales es conocer los efectos que diferentes sustancias o procedimientos pueden tener en el ser humano, motivo de controversia .




























Dos tipos de investigación

investigación aplicada

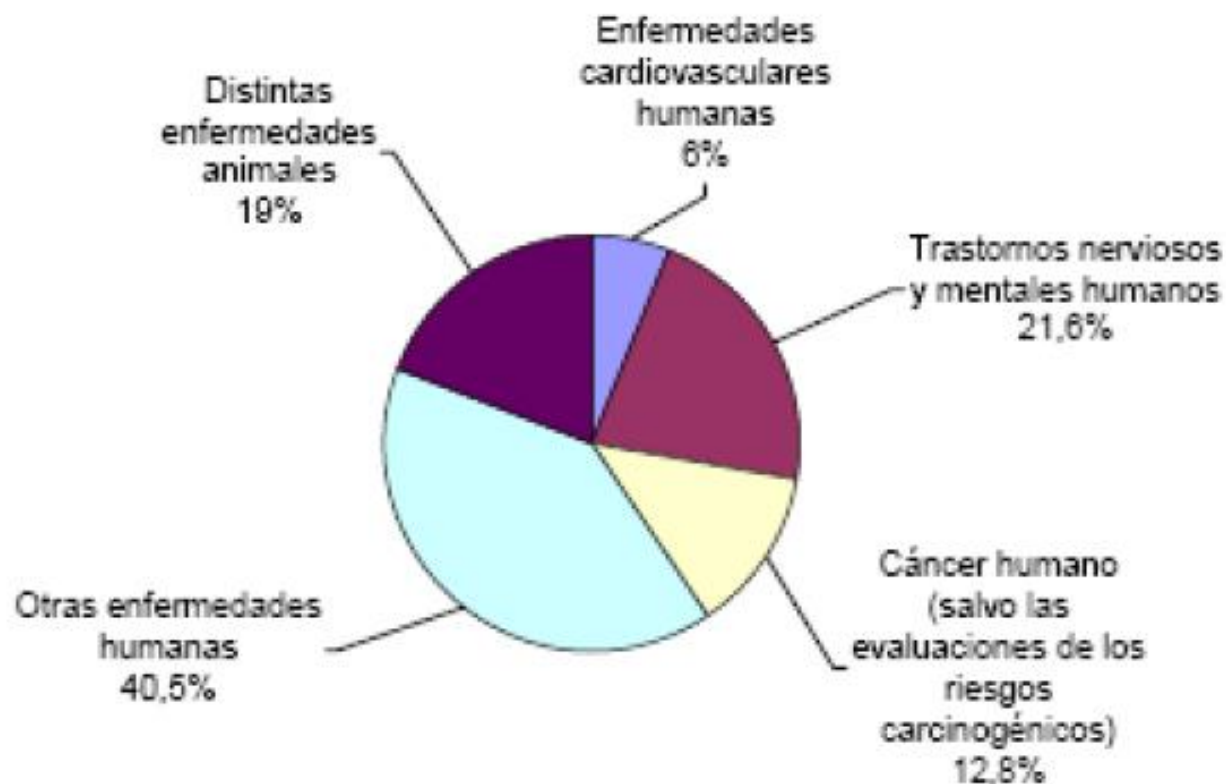
investigación básica



## Los animales en la Historia de la Biomedicina

1901 Von Behring	Antisuero de la difteria.	 Cobaya
1903 Pavlov	Respuestas animales a varios estímulos.	 Perro
1906 Golgi, Cajal	Caracterización del sistema nervioso central.	 Caballo  Perro
1912 Carrell	Avances quirúrgicos en la sutura e injerto de vasos sanguíneos.	 Perro
1913 Richet	Mecanismos de anafilaxis.	 Conejo  Perro
1919 Bordet	Mecanismos de la inmunidad.	 Caballo  Cerdo
1923 Banting, Macleod	Descubrimiento de la insulina y mecanismo de la diabetes.	 Conejo  Perro  Pez
1924 Einthoven	Mecanismo del electrocardiógrafo.	 Perro
1932 Sherrington, Adrian	Funciones de las neuronas.	 Gato  Perro
1945 Fleming, Chain, Florey	Efecto curativo de la penicilina en las infecciones bacterianas.	 Rata
1949 Hess, Moniz	Organización funcional del cerebro como coordinador de los órganos internos.	 Gato
<b>1959: Russell y Burch crean las "tres R" de la experimentación</b>		
1960 Burnet, Medawar	Tolerancia inmune adquirida.	 Conejo
1966 Rous, Huggins	Tumores inducidos por virus y tratamiento hormonal del cáncer.	 Rata  Cobaya
1968 Holley, Khorana, Nirenberg	Interpretación del código genético y su papel en la síntesis de proteínas.	 Rata
1972 Edelman, Porter	Estructura química de los anticuerpos.	 Cobaya  Conejo
1979 Gormack, Hounsfield	Desarrollo de la tomografía asistida computerizada (TAC).	 Cerdo
1980 Bevacerraf, Dausset, Snell	Identificación de los antígenos de histocompatibilidad y mecanismos de acción.	 Rata  Cobaya
<b>1992: Se funda el centro europeo para las alternativas a la experimentación animal.</b>		
1990 Murray y Thomas	Técnicas de trasplantes de órganos.	 Perro

## Porcentaje de animales utilizados para el estudio de enfermedades



COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS

Bruselas, 5.11.2007  
COM(2007) 675 final

INFORME DE LA COMISIÓN AL CONSEJO Y AL PARLAMENTO EUROPEO

Quinto informe sobre las estadísticas relativas al número de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos en los Estados miembros de la Unión Europea

(SEC(2007)1455)



**Por supuesto que parece cansado. Ha trabajado dos años para descubrir la cura del cáncer.**

A pesar de que las tasas de muertes a causa del cáncer están disminuyendo, su trabajo no ha terminado.

La investigación biomédica ha avanzado muchísimo en la lucha contra algunos tipos de cáncer, pero aún quedan muchos desafíos.

Los científicos y los médicos dependen de ratas blancas (y otros animales utilizados en investigaciones) para la búsqueda en curso de la prevención, el tratamiento y hasta la cura del cáncer en sus variadas formas.

**La investigación con animales salva vidas.**

**AMP**

AMERICANS FOR MEDICAL PROGRESS  
526 King Street, Suite 201, Alexandria, VA 22314  
703-836-9595 • [www.amprogress.org](http://www.amprogress.org)



# ANIMALS CITED IN BIOMEDICAL RESEARCH PAPERS

1950-2010



Mice  
& Rats



Yeast  
& Nematodes



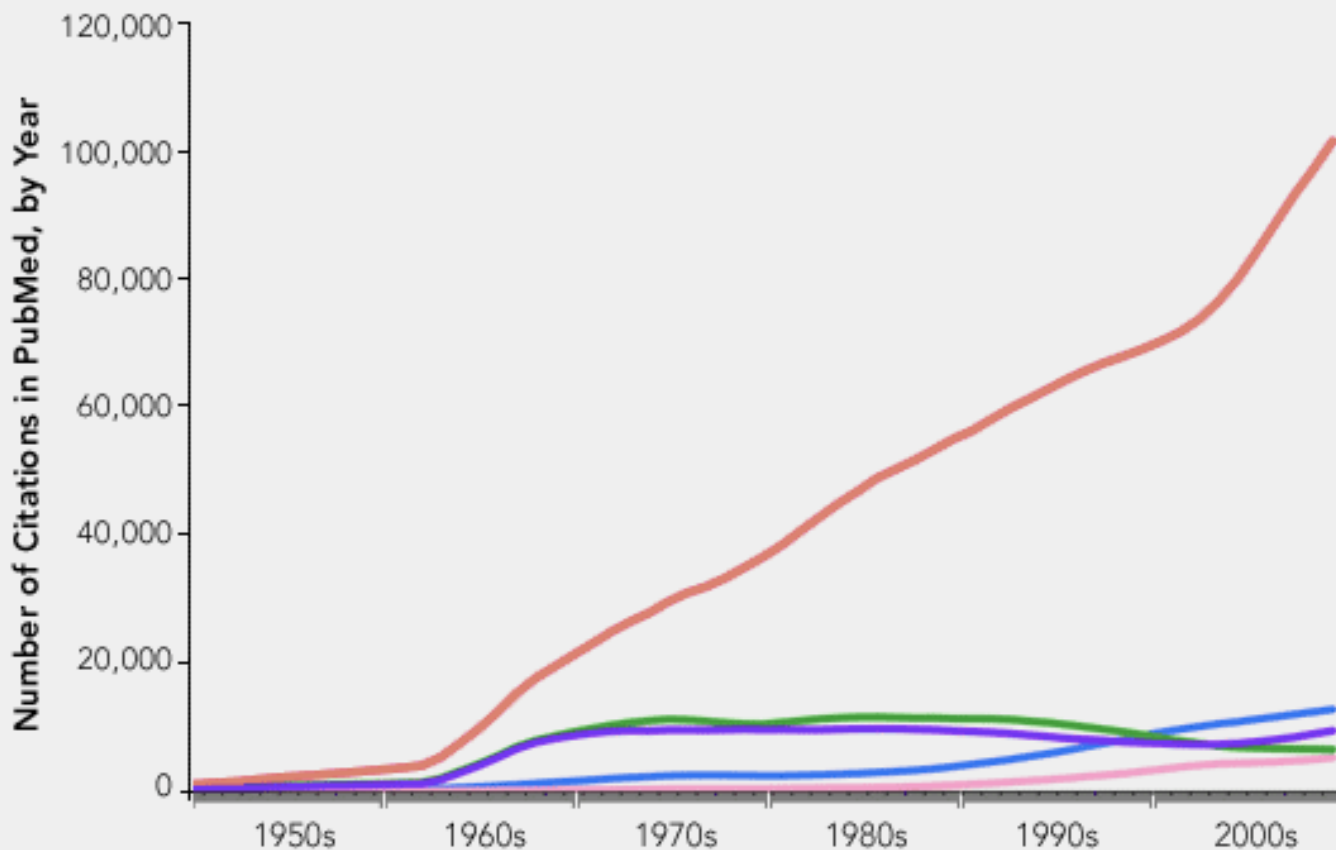
Dogs  
& Cats



Guinea Pigs  
& Rabbits

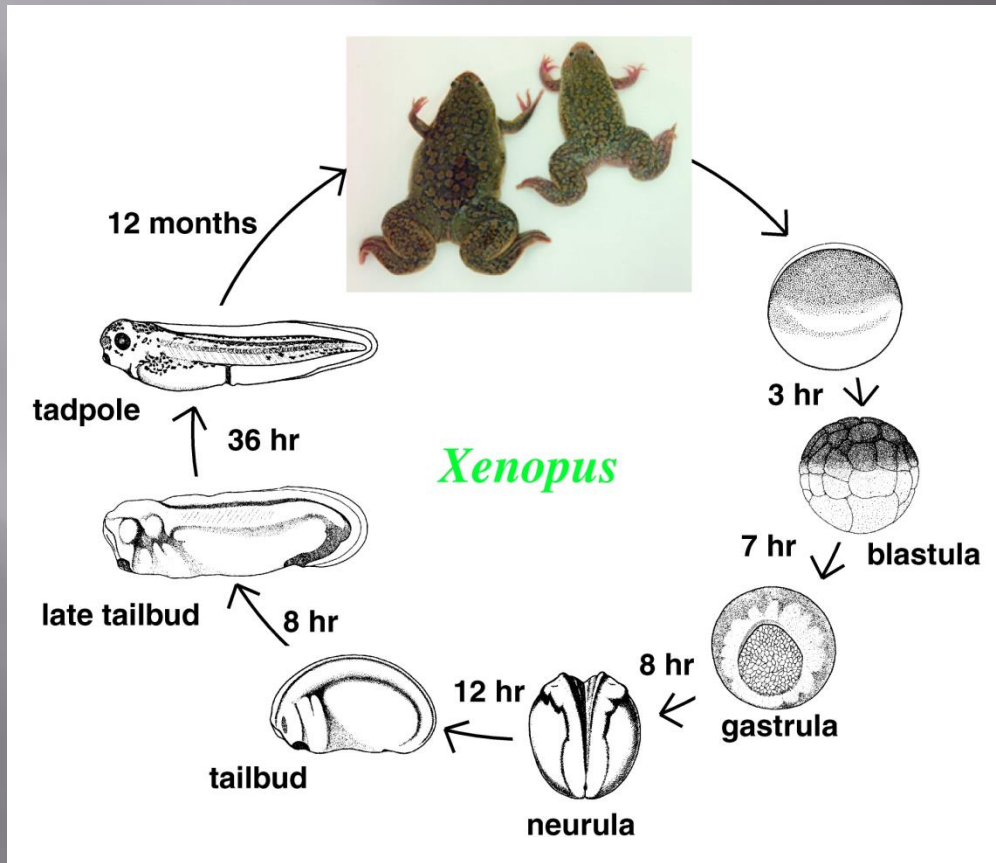


Zebrafish  
& Fruit Flies



# En Estudios de Desarrollo...

## ¿Cómo escoger un modelo animal?



<http://informatics.gurdon.cam.ac.uk/online/xt-fl-db.html>



# Estudios sobre desarrollo animal

Especies más utilizadas:

- Invertebrados:
  - *Caenorhabditis elegans*
  - *Drosophila melanogaster*
- Vertebrados:
  - Pez cebra (*Danio rerio*)
  - *Xenopus laevis*
  - Pollo
  - Ratón



Nature 8 nov 2007, número especial en *Drosophila* genomics  
<http://www.nature.com/nature/focus/drosophila/index.html#curr>  
The interactive fly: <http://www.sdbonline.org/fly/aimain/1aahome.htm>



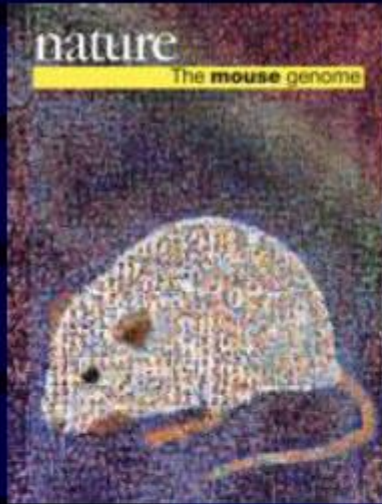
En el siglo XX (1909) el **Dr. Clarence C Little** da a conocer al mundo científico los primeros ratones consanguíneos idénticos genéticamente

Sus aportaciones:

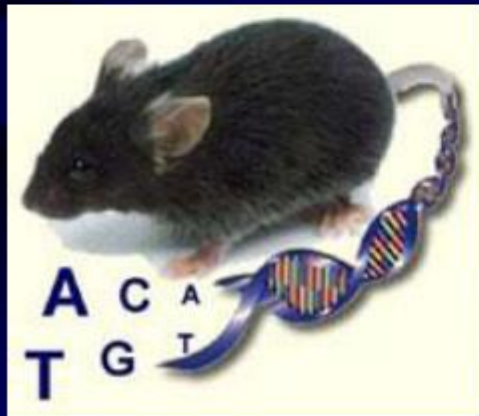
- ✓ En investigación inmunológica:
- ✓ Trasplantes de órganos
- ✓ Cáncer
- ✓ Estudios genéticos



La cepa de Little soportó 20 generaciones de endogamia y seguía siendo perfectamente viable. Al cabo del proceso, DBA se convirtió en la primera cepa isogénica de un mamífero: una población de individuos genéticamente idénticos, clones a todos los efectos prácticos. Y el control ideal que necesitaba la experimentación biológica.



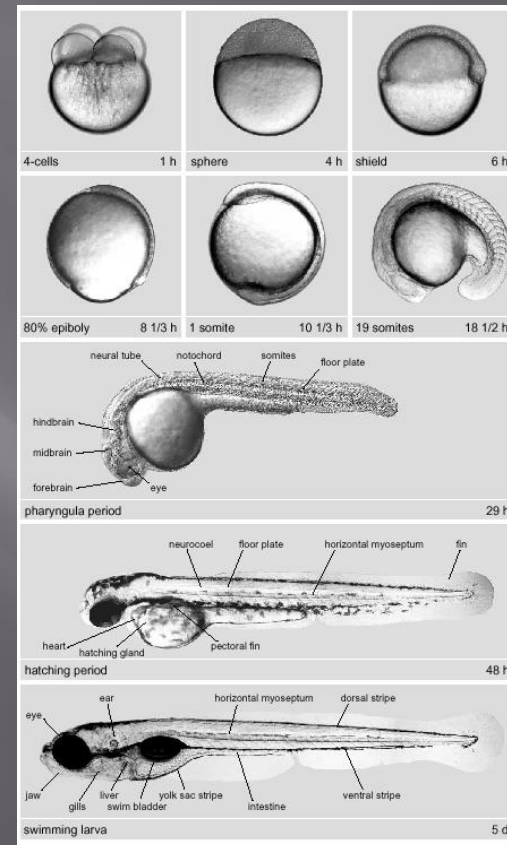
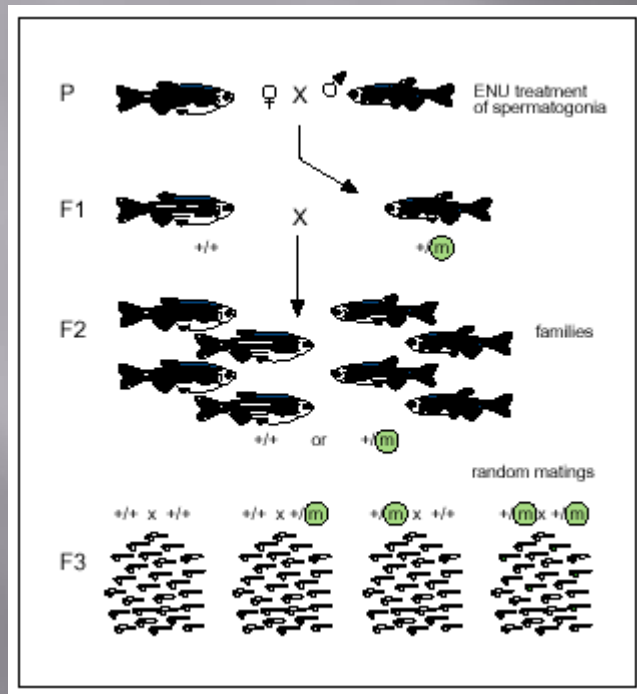
100 años DBA



*Premio Nóbel 2007 Fisiología y Medicina*  
*100 años DBA*

# Pez cebra

## Identificación por mutagénesis química



Etapas del desarrollo analizadas

Development 123: 1-36, 1996

<http://zebra.biol.sc.edu/>

[http://www.bio.umass.edu/biology/kunkel/fish/zebra/animal\\_model.html](http://www.bio.umass.edu/biology/kunkel/fish/zebra/animal_model.html)



- ▶ Existen diversas maneras de generar ratones genéticamente modificados:
- ▶ transgénicos (en donde se microinyecta un fragmento de ADN a una cigota)
- ▶ “*knock in*” y “*knock out*” en donde se manipulan genéticamente células embrionarias de ratón.
- ▶ En todos los casos, lo esperado es que a través de la modificación deseada en el genoma, se puedan recapitular ciertas características fenotípicas que permitan validar un modelo murino.



## Es obesa, sí, pero salva vidas.

En Norteamérica nunca ha sido tan fácil ser obeso...y muchos de nosotros lo estamos pagando con nuestra propia vida.

Esta rata es un modelo de investigación de la obesidad; gracias a ella los médicos logran nuevos descubrimientos para combatir enfermedades graves, como la diabetes, el colesterol alto y las enfermedades coronarias.

Esta rata es obesa para que usted no tenga que serlo.

**La investigación con animales salva vidas.**

**AMP**

AMERICANS FOR MEDICAL PROGRESS  
526 King Street, Suite 201, Alexandria, VA 22314  
703-836-9595 • [www.amprogress.org](http://www.amprogress.org)

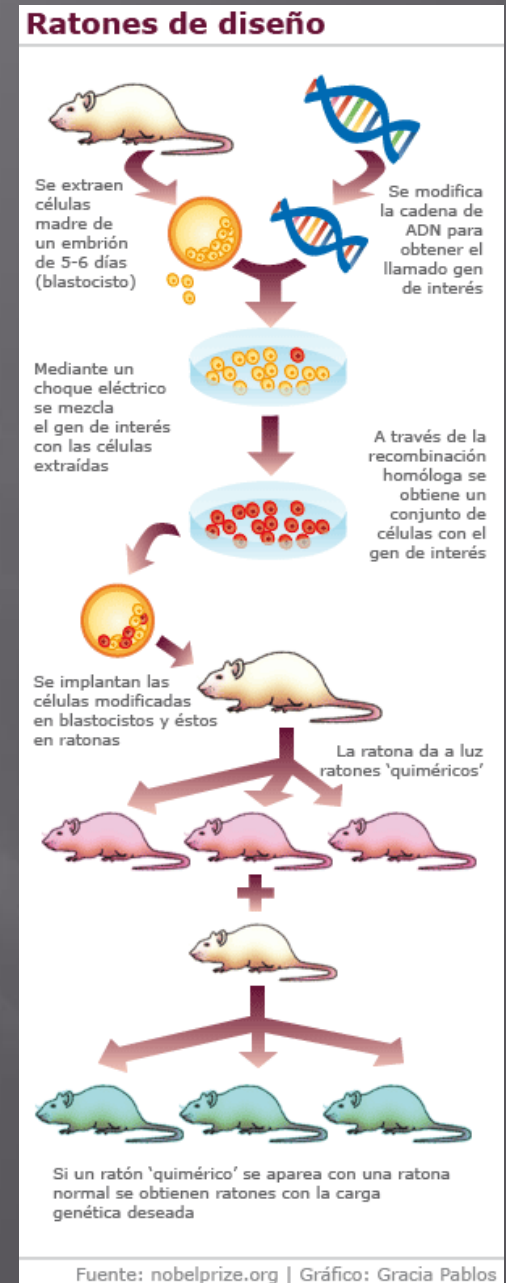


La Academia sueca ha galardonado a los estadounidenses Mario Capecchi (de origen italiano) y Oliver Smithies (nacido en Reino Unido) y al británico Sir Martin Evans con el Premio Nobel de Medicina y Fisiología 2007 por sus trabajos sobre células madre y manipulación genética en modelos animales.

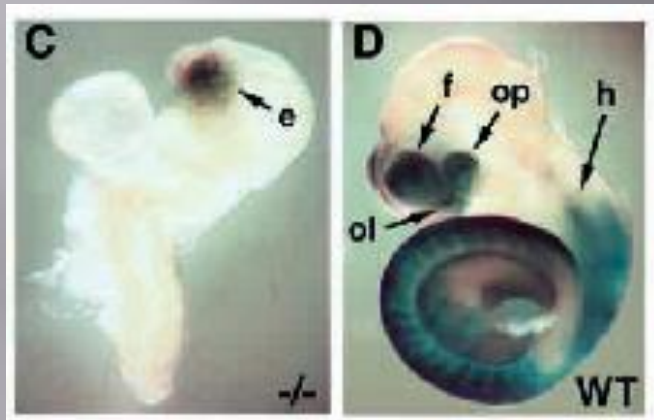
Sus descubrimientos han permitido "poner en marcha una tecnología de una importancia inmensa para manipular genes en modelos animales", según ha reconocido el jurado.

La técnica desarrollada por los científicos premiados forma parte de la rutina diaria de los laboratorios de investigación biomédica de todo el mundo.

<http://www.elmundo.es/elmundosalud/2007/10/08/medicina/1191830657.html>



# Ratón



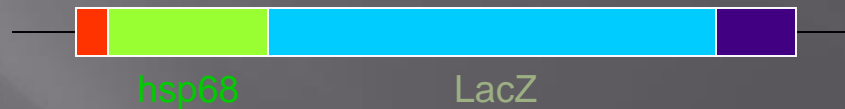
Embriones de ratón a E9,5

Determinación día de gestación

- Tapón vaginal
- Frotis

Doble ejemplo:

- El ratón transgénico *RARE lacZ* nos permite estudiar los niveles de ácido retinoico durante el desarrollo (a mayor coloración, mayor concentración )
- El ratón knock out (-/-) de *Raldh2* (uno de los enzimas que participan en la síntesis de ácido retinoico)



RA localization in *Raldh2* <sup>-/-</sup> embryos carrying the *RARE-lacZ* RA-reporter gene.  
Development 129: 2271, 2002



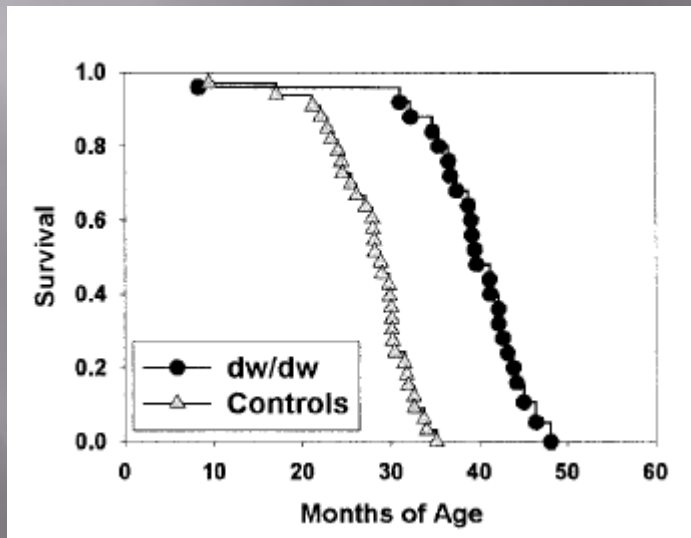
## Estudios de cambios en la conducta



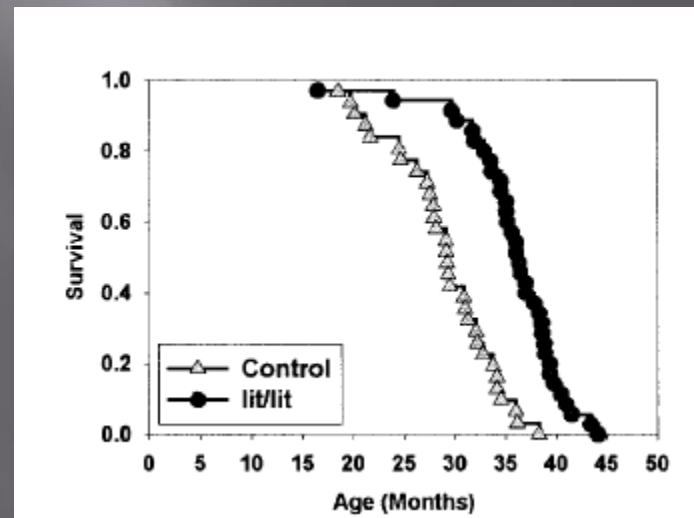
# Modelos de Longevidad-I

## Déficit hormonal por mutación espontánea

- ✓ **Snell dwarf mouse:** carencia de Pit-1
- ✓ **Ames dwarf mouse:** carencia de Prop-1
- déficit combinado GH, TSH, Prolactina y IGF-I : enanismo, baja fertilidad
- ✓ **Little mouse:** carencia de GHRHR, déficit GH y IGF-I : enanismo



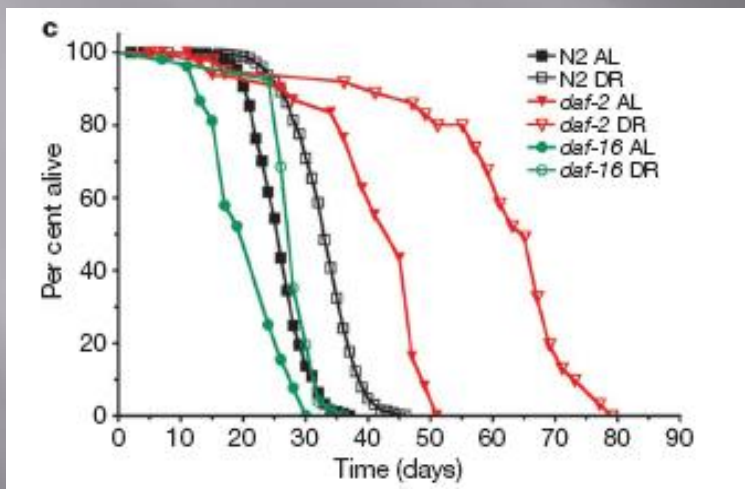
dw/dw:snell dwarf mouse



lit/lit:little mouse

# Modelos de Longevidad-II

## Restricción calórica



Nutrition Reviews 2006, 64: 89

**Two neurons mediate diet-restriction-induced longevity in *C. elegans***

CBE—Life Sciences Education  
Vol. 6, 98–108, Summer 2007

NATURE|Vol 447|31 May 2007


# MODELOS DE OBESIDAD POR MUTACIÓN ESPONTÁNEA

- Ratón *ob (obese)* ( 1950)
- Ratón *db (diabetes)* (1966)  
y rata *fa (fatty , Zucker)* (1961)
- Ratón *agouti/lethal yellow obese (A<sup>y</sup>)* (1927)
- Ratón *fat (fatty)* (1972)
- Ratón *tub (tubby)* (1977)

# Diabetes tipo II

## Modelos animales con obesidad

Ratones db/db y ob/ob




**obese, diabetic mouse**

metabolic feature	control	+TZD
body weight	high	increased
glucose	high	normalized
insulin	high	reduced
plasma FFA	high	reduced
hepatic TG	high	increased
BAT weight	high	increased

## Aplicaciones

Patogénesis  
Terapia

Dieta hiperlipídica




**wt mouse on a high fat diet**

metabolic feature	control	+TZD
adipocyte size	hypertrophic	small
glucose	elevated	normalized
insulin	elevated	reduced
plasma FFA	high	reduced
liver, muscle TG	high	reduced
WAT lipogenesis	high	increased
hepatic lipogenesis	high	reduced

Patogénesis  
Terapia

## Modelos animales con Lipoatrofia

Ratón transgénico (A-ZIP/F1)



**lipoatrophic mouse**

metabolic feature	+TZD	fat transplant
hyperinsulinemia	no change	improved
hyperglycemia	no change	improved
hepatic steatosis	no change	improved
plasma, muscle TG	reduced	no change
plasma, muscle FFA	reduced	no change
FFA oxidation	reduced	no change

Patogénesis  
Terapia

# Estudios en Inmunología

## Modelo más utilizado:

- Ratón nude (nu/nu)
  - Mutación espontánea
  - Fenotipo sin pelo, pelo normal (albino) en nu/+
  - Inmunodeficientes
  - Necesitan mantenimiento a 25° C y en ambiente SPF (Specific Pathogen Free)
  - También se utilizan en estudios sobre cáncer



# Ratón NOD (Non-obese diabetic)



ratón NOD

ratón NON

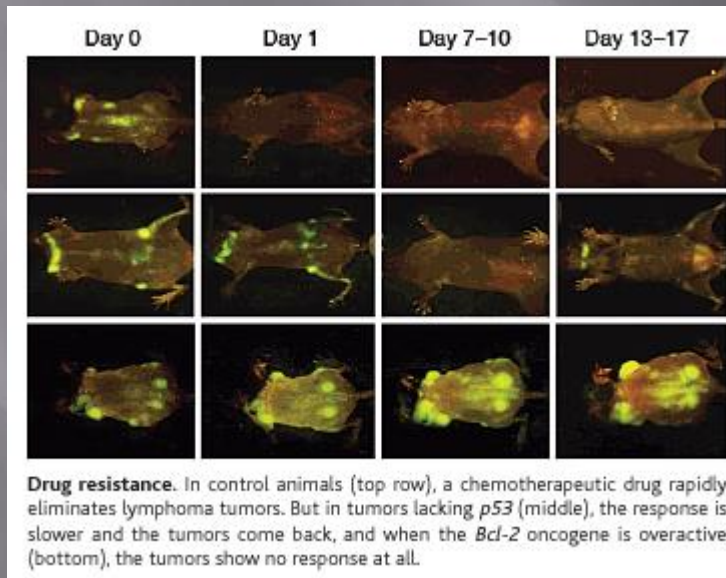
- insulinitis (de 5a 9 semanas)
- diabetes (a los 2 meses)
  - con glucosuria y glucemia superior a 250 mg glucosa/100ml
- incidencia: 60-90 % hembras, 20-50% machos
- alta incidencia de otras enfermedades autoinmunes (tiroiditis)

Nature Medicine 5: 601, 1999; Trends Mol. Med. 8: 31, 2002;  
Nature 435: 151, 2005

# Nuevos Modelos Animales en el estudio del cáncer

Objetivo: nuevos modelos más parecidos al desarrollo de la enfermedad en humanos

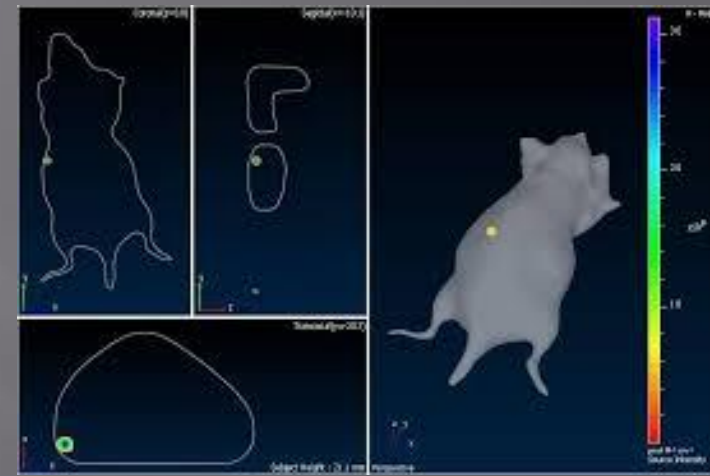
- Estudio primeras etapas progresión tumoral
- Efectos de la combinación de varias mutaciones
- Metástasis
- Aplicables en la identificación de nuevas terapias



Science 299: 1972, 2002

The Lancet Oncology 3: 546, 2002; Science 299: 1972, 2002; Science 302: 605 y 1880, 2003  
J. Clin. Invest 116: 847, 2006





Nuevas herramientas:

- Sistema Cre-lox:
  - Inactivación supresores tumorales (ej:p53)
  - Activación expresión oncogenes (ej: Bcl-2)
- Seguimiento in vivo:
  - Detección por:
    - Imagen por resonancia magnética (MRI)
    - Tomografía de emisión de positrones (PET)
    - Imagen óptica de fluorescencia (GFP) y bioluminiscencia



## Estar desnudo, arrugado y feo nunca antes ha sido tan hermoso.

El glioblastoma es el tipo de tumor cerebral primario más común y agresivo (y además causa la muerte de casi todos los que lo contraen).

La investigación con animales es esencial para los esfuerzos por comprender este terrible cáncer y descubrir la manera de mejorar las probabilidades de sobrevivir.

Para los médicos y pacientes que luchan contra el tiempo, este ratón es digno de contemplación.

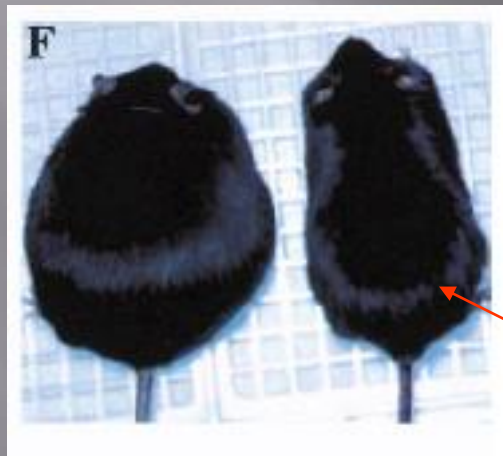
**La investigación con animales  
salva vidas.**

**AMP**

AMERICANS FOR MEDICAL PROGRESS  
526 King Street, Suite 201, Alexandria, VA 22314  
703-836-9595 • [www.amprogress.org](http://www.amprogress.org)



# UTILIZACIÓN ACTUAL DE LOS MODELOS DE OBESIDAD POR MUTACIÓN ESPONTÁNEA



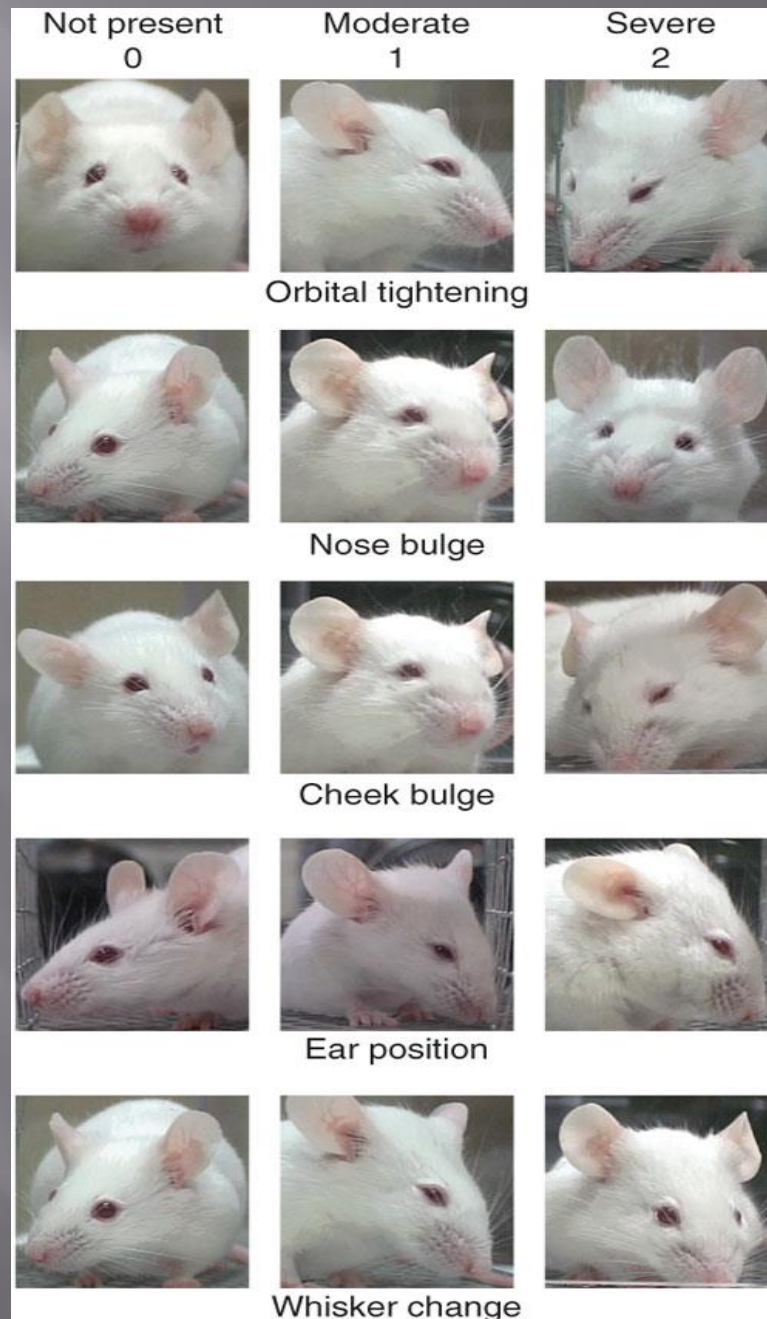
*db/db*      *db/db NP16-PPAR $\delta$*

Ratones transgénicos expresan una forma constitutivamente activa PPAR $\delta$  en T.A

**Peroxisome-Proliferator-Activated Receptor  $\delta$   
Activates Fat Metabolism to Prevent Obesity.**

Cell, Vol. 113, 159–170, April 18, 2003

Normas de buen  
manejo de los Modelos  
Animales



# Cerdos

Convencionales (de granja)  
Minipig



## ▣ BIOÉTICA

- ▣ Interdisciplina orientada a la toma de decisiones éticas de los problemas planteados por los avances médicos, biológicos y tecnológicos en el ámbito social, y su repercusión en la sociedad y sus sistemas de valores, tanto presentes como futuros.

*V.R. Potter (1911-2001)*

**No todo lo que  
se puede hacer  
tiene licitud  
ética...**

*V.R. Potter*

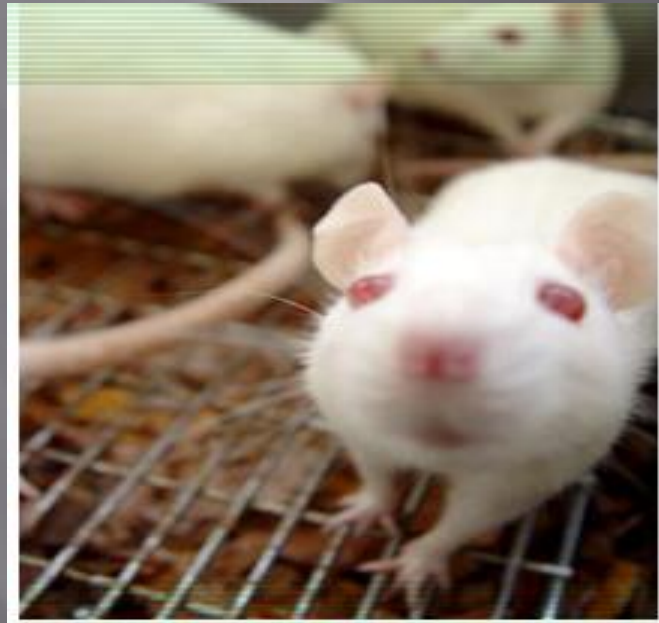


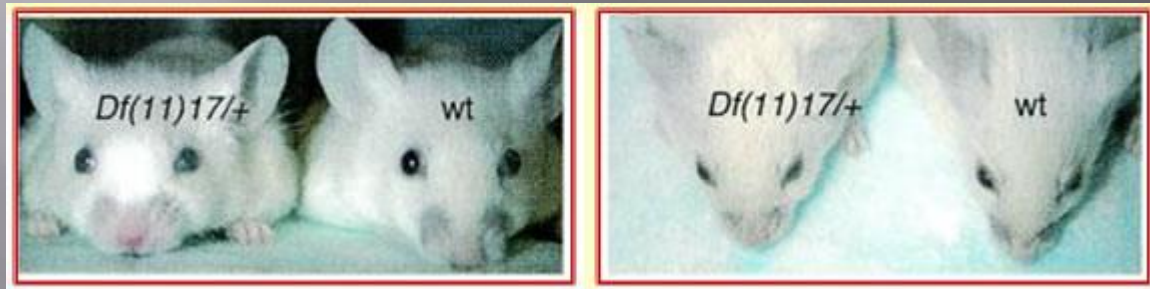


## RATONES QUE SALVAN VIDAS



“Un humano sin cola”, que sólo difiere en 300 genes con el hombre...





- ▣ Uno de los modelos murinos creados para el síndrome Smith-Magenis.
- ▣ Se evidencia la presencia de anomalías craneofaciales con respecto al ratón silvestre.

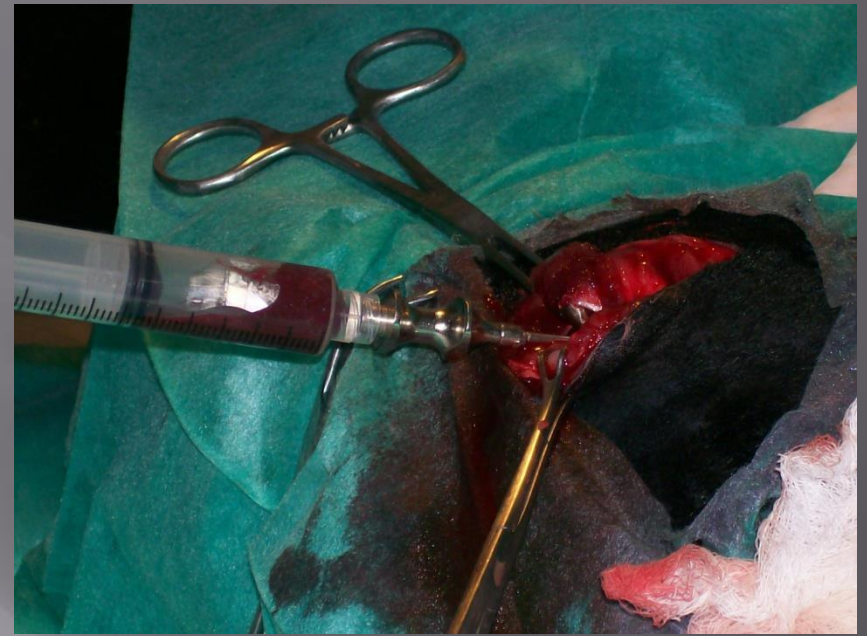
(Walz *et al.* 2003)

- ▣ Con la investigación científica desarrollada con respecto a los desórdenes genómicos descritos, hemos visto cómo es posible seguir validando la generación de modelos de ratón para estudiar enfermedades humanas. Y más aún, en estos tiempos y luego de tantos logros científicos, existe una retroalimentación que enriquece la medicina humana a partir del estudio del animal de laboratorio
  
- ▣ **Paulina Carmona-Mora, Bioquímica** John P.Hussman Institute for Human Genomics. University of Miami



Una alternativa..

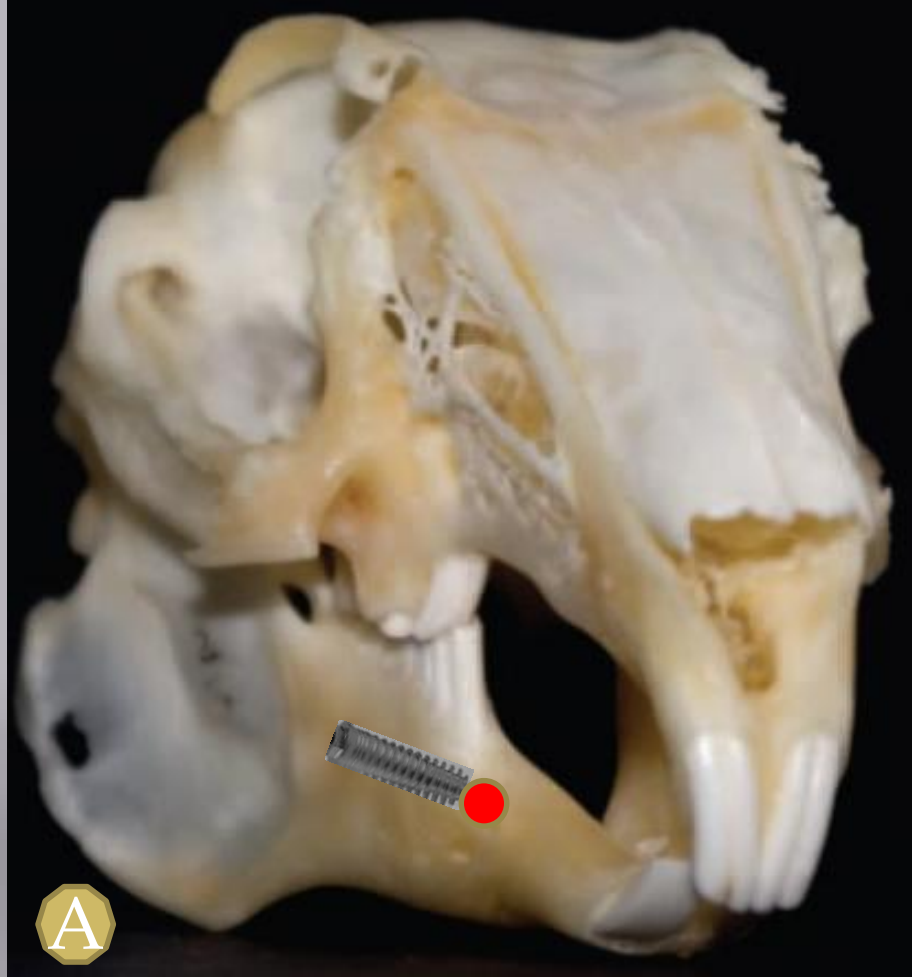




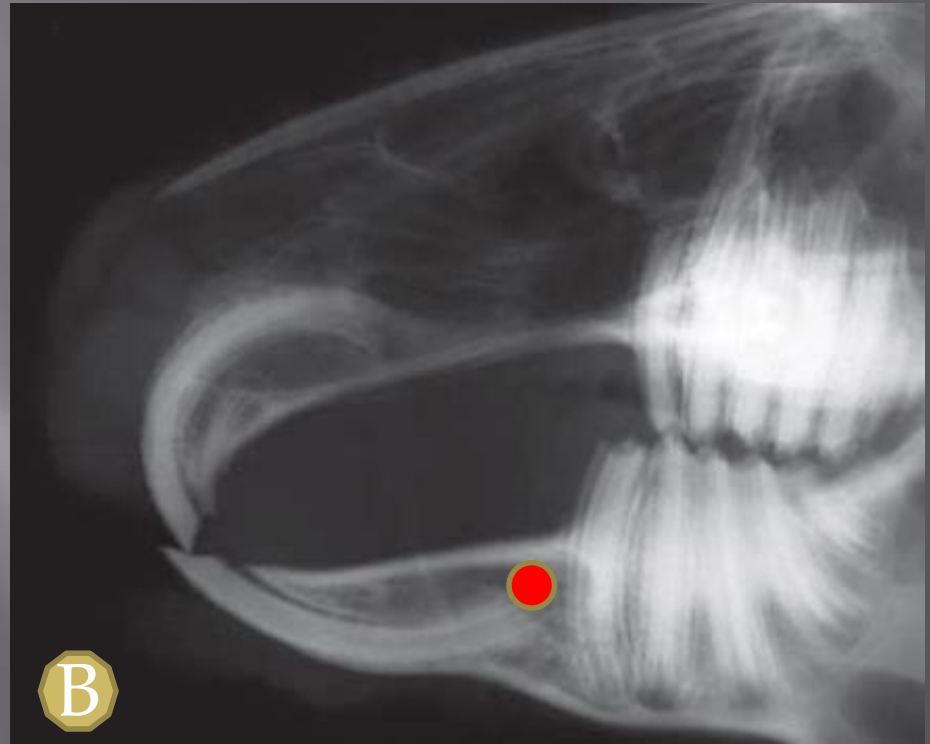
**Manejo adecuado y acorde a los métodos y proyectos**







A



B

En la foto A se ve la sugerencia de dirección de la aplicación del implante y el círculo rojo el lugar  
En la Foto B se observa en el círculo rojo el lugar de la aplicación del implante



- ▣ " Para alcanzar algo que nunca has tenido, tendrás que hacer algo que nunca hiciste" ...



**Gracias**