

Algunas consideraciones y experiencias sobre el uso del ratón atímico como modelo experimental

R. CASTILLO y A. LÓPEZ

Departamento de Animales y Tumores Experimentales, Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología, MINSAP, 29 y E, Vedado, Zona Postal 4, La Habana, Cuba

Recibido en junio de 1988

Aspectos generales

El ratón atímico se caracteriza por una aplasia congénita hereditaria del timo, que le provoca una severa depresión inmunológica natural, y que permite el crecimiento exitoso de tejido normal o neoplásico de razas y especies diferentes (Kyriasis, 1981).

También presenta una elevada susceptibilidad a contraer enfermedades, lo que hace necesario crear condiciones de mantenimiento controladas desde el punto de vista microbiológico, de temperatura y de humedad (ILAR, 1976).

La primera noticia que se tuvo sobre el ratón atímico fue dada por el doctor Grist en 1960, cuando observó ratones fenotípicamente libres de pelo en una población no consanguínea de ratones albinos mantenida en el Laboratorio de Virología del Ruchill Hospital, de Glasgow.

Estos animales se estudiaron posteriormente en Edimburgo, y los resultados fueron dados a conocer por Flanagan en el año 1966 (Flanagan, 1966).

El término *nude* define un alelo mutante recesivo del grupo de *linkage* (ligazón) VII en el cromosoma 11 del ratón; los animales presentan como característica peculiar la falta de pelo y timo, de ahí su denominación en inglés como *nude mice*.

En los últimos años se ha observado un incremento en el uso del ratón atímico como modelo experimental; en 1977, del total de trabajos publicados en la revista *Cancer Research*, sólo el 3,3% utilizaba este modelo, mientras que ya en 1987 el 17% de los trabajos usaban el ratón atímico como modelo experimental.

Uso experimental

La posibilidad de mantener algunos de los tumores humanos en estos animales, sin que ellos pierdan las propiedades bioquímicas y morfológicas originales, sigue siendo, sin dudas, uno de los aspectos más importantes de este modelo, permitiendo así estudios sobre la biología tumoral y la respuesta a tratamientos (Giovanella, 1983; 1986).

Además, se ha hallado la presencia de antígenos tumorales en el suero de los ratones atímicos portadores de tumor humano, que pueden utilizarse como inmunógeno en un ratón inmunocompetente de igual fondo genético que el ratón atímico. Así, el sistema inmune

de los ratones normales singénicos puede sensibilizarse contra el o los antígenos del tumor humano que circulan en el suero del ratón nu/nu, para obtener hibridomas secretores de anticuerpos monoclonales contra los antígenos asociados al tumor.

Esto posibilita el desarrollo de nuevas pruebas serológicas útiles para el seguimiento de los pacientes con cáncer (Yamada, 1987) y también para la creación de programas de marcadores tumorales relacionados con la detección precoz de esta enfermedad.

Por otro lado, la manipulación de estos ratones genéticamente atómicos, desde el punto de vista de su apareo con otras líneas de ratones portadores de mutaciones para otros caracteres, sigue siendo una vertiente amplia de trabajo experimental, fundamentalmente en el campo del estudio de la respuesta inmune (Lozzio, 1976; Fodstad, 1984; Karogogeos, 1987).

Muchas investigaciones experimentales seguirán dependiendo de este modelo animal, no tan solo por sus características biológicas, sino también por sus facilidades reproductivas, capacidad de alojamiento y mantenimiento, lo cual permite un modelo más práctico y económico, comparado con otras especies de iguales o semejantes características biológicas.

Experiencia en Cuba

Los primeros parentales de ratones atómicos (9 hembras heterocigóticas nu/+ y 3 machos homocigóticos nu/nu con fondo genético BALB/c) que arribaron a Cuba, fueron recibidos en el mes de octubre de 1985 por el Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología de La Habana, suministrados gentilmente por la doctora Elena Ribasova, especialista del Centro Científico Nacional Oncológico de Moscú, URSS.

Con un estricto cumplimiento de las normas y procedimientos higiénico-sanitarios establecidos y bajo la regulación de la temperatura, humedad y esterilización del recinto primario (Castillo, 1985), se ha consolidado una reproducción estable de ratones atómicos derivados fundamentalmente de dos líneas conocidas de ratones consanguíneos; una con fondo genético BALB/cHab y la otra con el fondo genético IOR/Hab.

Esta última línea es una nueva raza de ratones consanguíneos, cuyas siglas responden al Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología y el símbolo Hab identifica a los animales consanguíneos producidos y mantenidos en nuestro Departamento (Castillo, 1982; Staats, 1985).

Sin dudas, disponer de una reproducción estable de ratones atómicos y la experiencia de más de 3 años de trabajo, contribuyen a garantizar una rápida expansión de este modelo animal a otros centros de investigaciones científicas del país.

Nuestro sistema de reproducción (ver figura 1), se basa en el apareo de hembras normales +/+ consanguíneas con ratones machos homocigóticos nu/nu, que da como progenie animales heterocigóticos nu/+ F1. De ahí, los machos son utilizados como donantes de timo y las hembras apareadas con machos homocigóticos nu/nu, que en un inicio son los propios parentales (retrocruces), mientras que después de constituida la primera generación, este sistema se repite n veces para cada generación.

Del apareo de hembras heterocigóticas nu/+ con machos homocigóticos nu/nu, resulta el 50% de ratones atómicos, que garantizan una producción estable de ratones atómicos. Por otro lado, se continúa el apareo de machos homocigóticos nu/nu con hembras normales +/+ de la línea consanguínea seleccionada desde un inicio. Cada apareamiento constituye un incremento del fondo genético de la línea consanguínea, de manera que, al cabo

de la generación 20, pueda disponerse de un ratón atímico con igual fondo genético a la línea consanguínea parental, excepto para el gen *nude*.

Después de estabilizada nuestra colonia reproductiva de ratones atímicos, el paso siguiente ha estado dirigido a fomentar un banco de tumores humanos xenotrasplantados cuyos resultados preliminares se muestran en la tabla 1; incluimos algunas fotografías del ratón atímico normal y con distintos tumores humanos. En este sentido, nuestra dirección actual de trabajo está orientada a la caracterización biológica de aquellos tumores humanos estabilizados a crecer en el ratón atímico y su uso inmediato en las investigaciones biomédicas, principalmente en la oncología experimental.

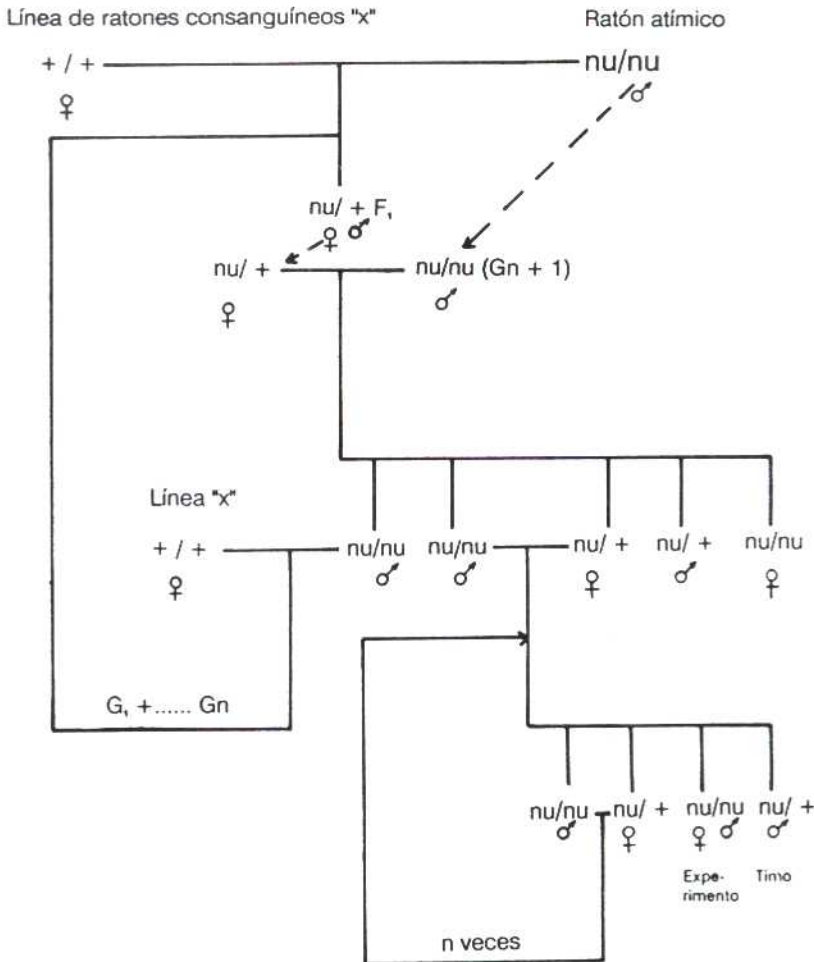


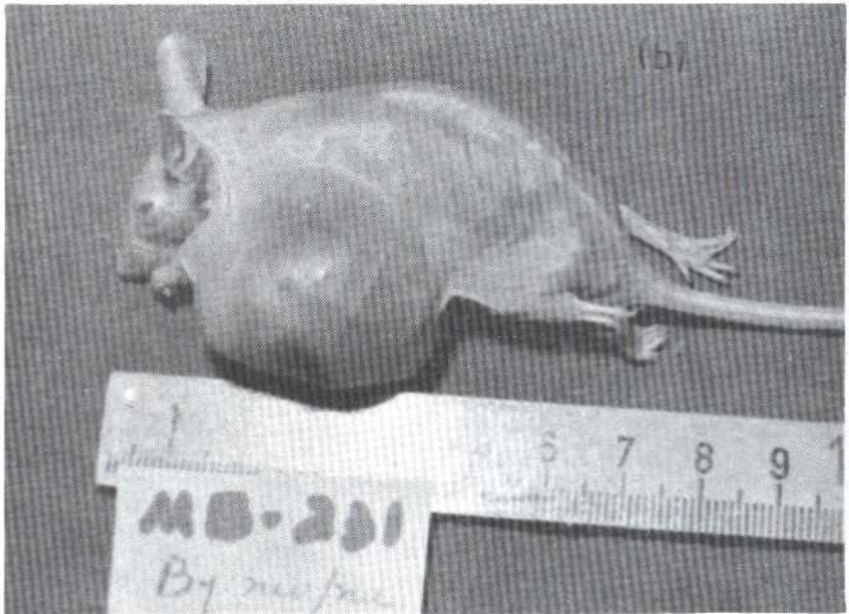
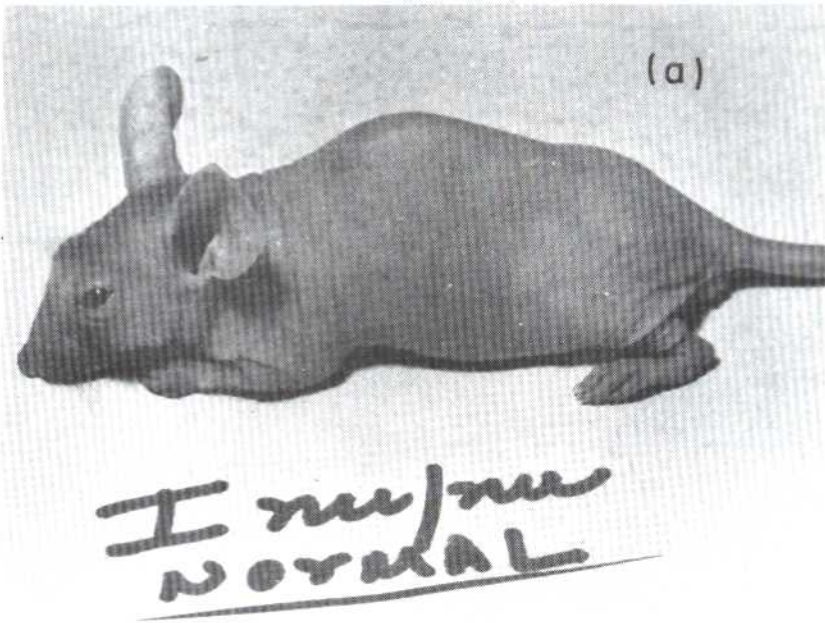
FIG. 1. Esquema de apareo para obtener ratones atímicos con fondo genético conocido.

Tabla 1
TUMORES HUMANOS XENOTRASPLANTADOS EN RATONES ATÍMICOS
Y MANTENIDOS DURANTE MAS DE TRES PASES *IN VIVO*

<i>Origen y tipo histológico</i>	<i>Características más sobresalientes</i>	<i>Denominación</i>
Ad. Carc. Mod. Dif. de colon.	CEA +; CA 19-9 +	CS1
Met. mesentérica de un Ad. Carc. Dif. de colon	CEA +	CS3M
Ad. Carc. Dif. de recto	CEA +	CS8
Carc. Epiderm. Dif. esófago	En estudio	CEE1
Carc. Epiderm. Dif. pulmón	EGF +	CPH3
Carc. pulmonar a células grandes	En estudio	CPH4
Carc. Epiderm. Dif. laringe	En estudio	CL1
Met. ganglionar Car. Epiderm. de laringe	En estudio	MCL1
Met. de un melanoma maligno con grado de pigmentación escaso	En estudio	Mel8
Carc. de células grandes del mediastino	En estudio	TM2
Astrocitoma grado III	En estudio	AST2
Met. Ganglionar de un Carc. basal múltiple (Carc. Epiderm. Mod. Dif.)	En estudio	GANG1
Leucemia linfocítica tipo T ^(a)	CD4 +	CEM-T
Ad. Carc. mamario ^(a)	EGF +; TGF alfa +	MDA-MB-231
Carc. ductal mamario ^(a)	Er +; Pgr +	MCF-7
Carc. de células pequeñas pulmón ^(a)	En estudio	U-2020
Carc. de células escamosas de pulmón ^(a)	En estudio	U-1752
Melanoma ^(a)	En estudio	MEL-A/375

^(a) Tumores creciendo en ratones atímicos, provenientes de cultivo celulares *in vitro*.

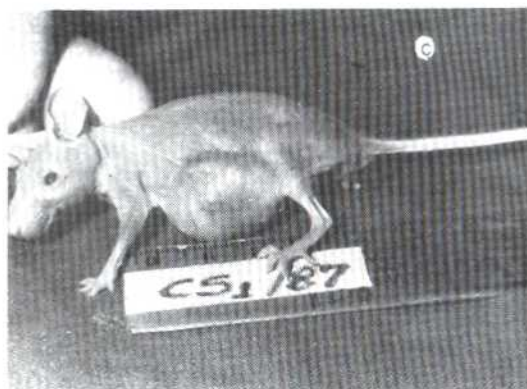
CEA: Antígeno carcinoembrionario; EGF: Factor de crecimiento epidérmico; TGF: Factor de crecimiento transformante; Er: Receptor de estradiol; Pgr: Receptor de progesterona; CD4: Cluster de diferenciación; Ad. Carc.: Adenocarcinoma; Mod. Dif.: Moderadamente diferenciado; Met.: Metástasis; Carc. Epiderm.: Carcinoma epidermoide.



FOTOS

a) Ratón atímico de fondo genético IOR/Hab;

b) Ratón atímico portador de un adenocarcinoma mamario MDA-MB-231.



c) Ratón atímico portador de un adenocarcinoma de colon.

d) Ratón atímico portador de un carcinoma epidermoide de pulmón.

REFERENCIAS

- CASTILLO, R. (1982). *New Inbred Strain: IOR/Hab-Mouse*. News Letter 67: 14-15.
- CASTILLO, R. (1985). *Animales de laboratorio en las investigaciones biomédicas*. Ed. Ciencias Médicas. pp. 1-200.
- FLANAGAN, S. P. (1966). "Nude" a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genetic Research* 8: 295-298.
- FODSTAD, S; C.; T. HANSEN y G. B. CANNON (1984). *Lack of correlation between natural killer activity and tumor growth control in nude mice with different immune defects*. *Cancer Research* 44: 4403-4408.
- GIOVANELLA, B. C.; S. STEHLIN; R. C. SHEPARD y L. J. WILLIAMS (1983). *Correlation between response to chemotherapy of human tumors in patients and in nude mice*. *Cancer* 52: 1146-1150.
- GIOVANELLA, B. C.; G. PEZZONI y R. GIARDINI (1986). *Growth characteristics of human colorectal and non-small cell lung tumors xenografted into nude mice: possible correlation with prognosis*. *Tumori* 72: 351-356.
- ILAR (1976). *Committee on care use to the nude mouse. Guide for the care and use of the nude (thymus-deficient mouse in biomedical research*. *ILAR-News* 21, No. 2.
- KAROGOGEOS, D. y H. H. WORTIS (1987). *Thymus grafts induce B cells development in nude, x-linked immune deficient mice*. *Eur. J. Immunol.* 17: 141-144.
- KYRIASIS, A. P.; A. A. KYRIAZIS; W. B. McCOMBS y J. A. KEREIAKES (1981). *Biological behaviour of human malignant tumors grown in the nude mouse*. *Cancer Research* 41: 3995-4000.
- LOZZIO, B. B. (1976). *The lasat mouse: A new model for transplantation of human diseases*. *Biomedicine* 24: 144.
- STAATS, J. (1985). *Standardized nomenclature for inbred mice. Eight listing*. *Cancer Research* 45: 945-977.
- YAMADA, T.; S. HIROHASHI; Y. SHIMOARTS; M. WATANABE; S. KAMIS; T. KUNY y Y. HAYATA (1987). *Monoclonal antibody raised by sera of athymic mice bearing human lung cancer xenografts*. *Oncology* 44: 186-191.