

El ratón *nude* (*nu/nu*) como modelo animal de inmunodeficiencia

Cecilia Carbone*, Fabricio Maschi.

Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio. Facultad de Ciencias Veterinarias. Calles 60 y 118 s/n (1900) La Plata.
Universidad Nacional de La Plata.

Recibido: 15/03/2006

Aceptado: 23/03/2006



La especie animal más utilizada en experimentación científica en la actualidad es el ratón (*Mus musculus*). Esto se debe principalmente no solo a sus características reproductivas, su tamaño y la facilidad de manejo, sino también a que su genoma es totalmente conocido.

Esto último ha permitido el desarrollo de modelos animales que pueden reproducir características específicas o enfermedades del hombre y de los animales convirtiéndose en reactivos biológicos sobre los cuales se pueden extrapolar los resultados de las investigaciones. Actualmente la producción de modelos murinos constituye una de las temáticas de vanguardia dentro de la ciencia de los animales de laboratorio.

En el ratón existen más de 4000 genes que están asignados a localizaciones específicas, muchos de los cuales fueron identificados, debido a que originan mutaciones espontáneas que producen características físicas distintivas. Los ratones mutantes que portan una mutación simple se han convertido en modelos animales importantes para su utilización en la experimentación científica. Una de estas mutaciones espontáneas simples es la denominada *nude* (*nu*). Este alelo mutante homocigoto recesivo pertenece al grupo *linkage* VII del cromosoma 11 y aparece por primera vez en el año 1966 en una colonia exocriada de ratones en un laboratorio en Glasgow, Escocia. Luego, en el año 1968, se descubre que el ratón *nude* homocigoto, además de presentar su fenotipo desnudo o sin pelo,

característica que le dio el nombre a la mutación, carecía de un timo funcional que permanece rudimentario y produce un número reducido de células T maduras por lo cual no rechazan tejidos alo y xenotransplantados. El hecho de que acepten el trasplante de tumores humanos ha sido uno de los descubrimientos más importantes que ha contribuido con el desarrollo de las investigaciones sobre el cáncer, convirtiendo a estos individuos en el primer modelo de animal de experimentación inmunodeficiente.

Otras características importantes

Los ratones heterocigotas (+/*nu*), son fenotípicamente normales e inmunocompetentes, mientras que los homocigotas para el gen *nude* (*nu/nu*) son los inmunocomprometidos. Además de su deficiencia de linfocitos T, tienen un complemento normal de linfocitos B dependientes de la médula ósea, por lo tanto, estos animales se convirtieron en una herramienta excelente para estudiar el papel del timo en la diferenciación linfocitaria y para realizar investigaciones sobre las funciones de las células B, las interacciones con otras células y para estudiar la actividad de células inmunes como las *Natural Killer* (NK) que aparecen en niveles elevados junto con los macrófagos.

Los ratones *nu/nu* si bien muestran un fenotipo desnudo, pueden presentar histológicamente escasos folículos pilosos normales y también algunos pelos finos.

Cabe aclarar que existen varios genes mutantes que producen el fenotipo desnudo: *nude*, *naked*, *hairless*, *rhino*; estos genes mutantes no se deben confundir uno con el otro, por lo cual los términos ratón *nude* y ratón sin pelo no se deben usar indistintamente.

Los roedores inmunodeficientes son modelos indispensables para las investigaciones biomédicas en estudios de oncología, inmunología, enfermedades infecciosas, estudios del sistema inmune, rechazo de tejidos transplantados, infecciones, cáncer y crecimiento de tumores.

El ratón *nude* en estudios oncológicos

El descubrimiento del ratón *nude* fue un punto de inflexión sumamente importante para la investigación del cáncer, debido a que permitió el estudio de los tumores humanos *in vivo*. El primer trasplante exitoso de un tumor maligno humano fue en el año 1969. Se debe considerar que antes de la aparición de la mutación que dio lugar al ratón *nude*, los tumores humanos se transplantaban y crecían en sitios, tales como los abazones de los hámsters.

Dentro de las investigaciones en el campo de la oncología para las cuales se han utilizado estos ratones como modelo se deben resaltar los hallazgos obtenidos en quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, anticuerpos monoclonales, interferones, interleuquinas y pruebas de carcinogenicidad entre otros.

Instalaciones y manejo

Producción y mantenimiento

Por su condición de inmunodeficientes, los ratones *nude* deben obligatoriamente mantenerse en ambientes en los que se hayan instalado barreras sanitarias estrictas. La categoría microbiológica de los *nude* debe ser la de animales SPF (*Specific Pathogen Free*), esto significa que tendrán su flora intestinal normal pero deberán estar libres de todos aquellos microorganismos específicos capaces de causar infecciones.

En condiciones convencionales pueden sobrevivir entre 14 y 30 días. El bienestar de estos animales depende, en gran medida, del sistema de alojamiento que se elija y del diseño y control del ambiente, factores que son críticos para la producción y el mantenimiento del *nude*. Además se deberán tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

- 1.- El ambiente físico debe diseñarse y operarse de manera tal que permita establecer controles ambientales estrictos, brindando seguridad y confort a los animales, minimizando las posibilidades de introducción o transmisión de agentes infecciosos. No solamente se los puede mantener en habitaciones acondicionadas con filtros absolutos (HEPA), sino que existe la alternativa de alojarlos en aisladores flexibles, cabinas aisladoras, estantes ventilados o microaisladores.
- 2.- La estabilidad ambiental se logra mediante un buen diseño del sistema de ventilación, del control de la temperatura, de la humedad relativa, y de la velocidad y presión del aire.
- 3.- Las áreas de servicios tienen que funcionar como una barrera efectiva entre los animales y el ambiente exterior. Estas están diseñadas específicamente para el lavado y esterilización de insumos, además se debe contar con un depósito de equipamiento, de alimento y lechos; un área de cuarentena; sala de necropsias; e instalaciones para el tratamiento y eliminación de los desechos.
- 4.- Las cajas, rejas, comederos y bebederos que se utilicen para el alojamiento de los animales deben estar de acuerdo con las normativas internacionales en cuanto a su material, dimensiones y diseño; con el objeto de brindar el máximo confort a los ratones y de facilitar en forma eficiente su limpieza y esterilización.

La instalación de barreras absolutas brindará la seguridad necesaria para evitar contaminaciones. Existe la necesidad de establecer procedimientos para el tratamiento de todos los insumos que se pondrán en contacto con los ratones *nude*.

El alimento debe ser estéril (sometido a autoclave o a irradiación) al igual que el agua de bebida. El ratón desnudo requiere una temperatura más elevada que las cepas tradicionales, se recomienda entre 25 +/- 1° C, y se debe considerar que en caso de alojarlos bajo un flujo laminar de aire continuo necesitarán una temperatura de 28° C para compensar la pérdida de calor corporal.

La humedad relativa se estandarizará entre el 40 y el 60 %, y la ventilación entre 10 y 15 recambios de aire por hora.

Un fotoperíodo uniforme luz/oscuridad de 14–10 horas respectivamente es el adecuado; teniendo en cuenta que se debe evitar una iluminación excesiva provenientes de artefactos fluorescentes.

Sistemas de cría



Las formas más frecuentes que se utilizan para reproducir estos animales son:

1.-Apareamiento de heterocigotas (+/*nu*):

Este tipo de cruzamiento entre hembras y machos heterocigotas permite obtener una filial 1 (F1) en donde el porcentaje entre fenotipos mutantes *nude* y normales, es decir con pelo, sea de 1:3. Debido a que los heterocigotas son inmunocompetentes y su fertilidad es normal; son fáciles de mantener como colonia saludable.

Sin embargo, este sistema tiene dos desventajas:

- a)- La producción de ratones *nu/nu* es baja.
- b)- Los animales de fenotipo normal producidos en este sistema pueden ser +/*nu* ó +/+; estos dos fenotipos no se pueden distinguir excepto por apareamientos o técnicas moleculares.

2.- Apareamiento de hembras heterocigotas *nu/+* con machos homocigotas recesivos *nu/nu*.

Es el sistema reproductivo que más se utiliza debido a que en la F1 el porcentaje de ratones de fenotipo *nude* respecto de los normales es 1:1. Además tiene la ventaja de que todos los ratones normales son heterocigotas.

3.- Apareamiento de homocigotas recesivos *nu/nu*

A veces se pueden reproducir apareando hembras y machos *nu/nu*, pero aunque toda la F1 resulta con fenotipo *nude*, es un tipo de cruzamiento que no es eficiente debido a la baja fertilidad de las hembras homocigotas *nude* y a su capacidad casi nula para amamantar a las crías, de manera tal que es probable que se fracase si se aplica este sistema.

Las colonias de ratones *nude* deben someterse a un programa de controles microbiológicos exhaustivos que permitirán corroborar la ausencia de contaminaciones. Estos incluyen a los animales, el ambiente y a los insumos.

Es indiscutible el importante progreso que se ha producido en el desarrollo de las investigaciones en las cuales se ha usado como modelo animal al ratón *nude*. El papel que cumplen estos animales como modelo de inmunodeficiencia continuará vigente en las investigaciones biomédicas, especialmente en aquellas enfocadas al tratamiento, prevención, comprensión o estudio del cáncer.

Referencias

- Scott E. Perkins, Neil S. Lipman. 1995. Characterization and Quantification of Microenvironmental Contaminants in Isolator Cages with a Variety of Contact Beddings. Contemporary Topics. Vol. 34. Nº 5. 93 – 97.
- MacDonald, H.R., C. Blanc, R.K. Lees, and B. Sordat. 1986. Abnormal distribution of T-cell subsets in athymic mice. J. Immunol. 136:4337-4339.
- Hansen, C.T. 1978. The nude gene and its effects. The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research, J. Fogh and B. Giovanella, eds. New York: Academic Press. 1-35.
- Fernando J. Benavides, Jean-Louis Guénet. Manual de Genética de Roedores de Laboratorio, principios básicos y aplicaciones. Universidad de Alcalá. SECAL. Laboratory Animals Ltd. 2003.
- A. A. Tuffery. Laboratory Animals, An introduction for experimenters. Second edition. Wiley & Son. 1995.
- Michael F. W. Festing. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. Churchill Livingstone. 1976. 57 – 73.
- Lela K. Riley. Development of a Performance Assessment Program for Research Animal Diagnostic Laboratories and Defining Microbiologic Testing Standards. Microbial Status and genetic Evaluation of Mice and Rats. 1999. 7 -13.

Páginas web:

- <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/N/NudeMouse.html>
- <http://jaxmice.jax.org/info/bulletin/bulletin06.html>
- <http://www.taconic.com/anmodels/NSWNU.htm>
- http://en.wikipedia.org/wiki/Nude_mouse
- http://www.vetmed.ucdavis.edu/Animal_Alternatives/cancer.htm
- http://www.everything2.com/index.pl?node_id=1062097
- http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarjournal/34_1_2/34_1_2NudeMouse.shtml

* Dra. Cecilia Carbone.

Profesora Titular. Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio.

Facultad de Ciencias Veterinarias.

UNLP.