

Plataforma de modelos animales para el desarrollo de terapias

TAMP Therapy Animal Models Platform



ÍNDICE

Introducción.....	4
01. Modelo de Esclerosis Lateral Amiotrófica	6
02. Modelo de enfermedades priónicas.....	8
03. Modelo de adenocarcinoma de próstata humano	10
04. Modelo de carcinoma VX2.....	12
05. Modelo de melanoma metastático de pulmón	14
06. Modelo de mieloma múltiple	16
07. Modelo de aterosclerosis e hígado graso no alcohólico	18
08. Modelo de osteoartritis	20

INTRODUCCIÓN

Los modelos biomédicos experimentales desempeñan un papel central en la investigación preclínica, permitiendo el análisis de los mecanismos fisiopatológicos de diversas enfermedades, así como la evaluación de intervenciones diagnósticas y terapéuticas en condiciones controladas. Estos modelos son esenciales para establecer correlaciones traslacionales entre los hallazgos experimentales y la práctica clínica, especialmente en el contexto de la medicina personalizada y de precisión.

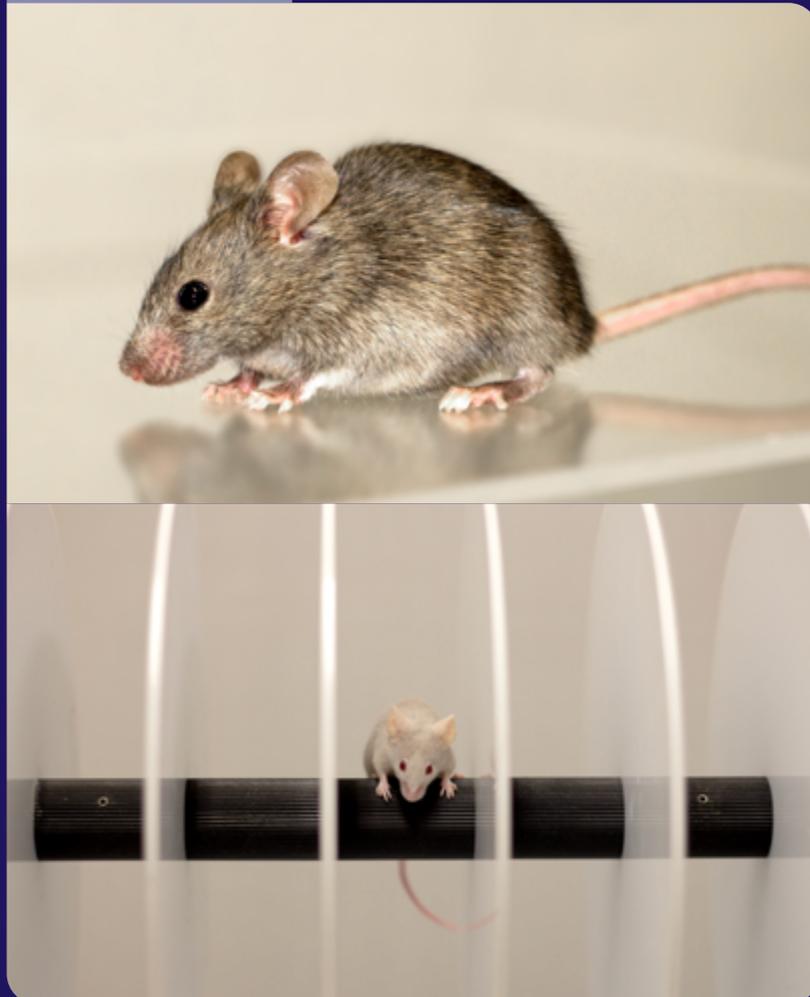
En este marco, la Universidad de Zaragoza ha desarrollado la Plataforma de modelos animales para el desarrollo de terapias (TAMP), una recopilación de modelos experimentales que han sido generados, optimizados o utilizados extensamente por grupos de investigación de la propia universidad. Esta plataforma tiene como finalidad servir de referencia para investigadores, instituciones y empresas que requieran herramientas fiables y validadas para el estudio de patologías humanas, facilitando la identificación de modelos adecuados para el cribado de moléculas, la evaluación de nuevas estrategias terapéuticas, y el análisis de biomarcadores diagnósticos o pronósticos. La plataforma pone a disposición de la comunidad investigadora una selección de modelos animales experimentales validados para el estudio de patologías de alta relevancia biomédica, tales como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, artrosis y aterosclerosis e hígado graso.

La elaboración de esta plataforma se enmarca en el Programa de Biotecnología Aplicada a la Salud, perteneciente al Plan Complementario de I+D+I en el ámbito de la biomedicina, y se inscribe dentro del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia, financiado por la Unión Europea — NextGenerationEU, en el que participa activamente la Universidad de Zaragoza como agente científico-tecnológico. El propósito general de dicho Programa es impulsar el desarrollo de herramientas innovadoras para el diagnóstico precoz, el pronóstico preciso y la implementación de terapias avanzadas, dirigidas o personalizadas, orientadas a mejorar los resultados clínicos en enfermedades de alto impacto sanitario.

La creación de esta plataforma responde también al compromiso con los principios de las 3Rs (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) en el uso de animales para la investigación, promoviendo el diseño de experimentos éticamente responsables, científicamente sólidos y regulatoriamente aceptables.

01. Modelo de Esclerosis Lateral Amiotrófica

01 Modelo



Área:

Neurociencias

Nombre del modelo:

Ratón transgénico SOD1^{G93A}

Especie animal:

Ratón (*Mus musculus*)

Fondo genético:

B6SJL

Breve descripción:

Ratón modificado genéticamente que posee varias copias del gen SOD1 humano mutado en el codón 93 (G93A), que sobreexpresa la forma mutada de la proteína SOD1, en la que la glicina (G) es reemplazada por alanina (A). Esta mutación, asociada a casos familiares de ELA en humanos, induce un fenotipo y una patología similares a los observados en la enfermedad.

Contacto:

 Rosario Osta Pinzolas

 osta@unizar.es

 Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal

 Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa grave que afecta progresivamente a las motoneuronas, provocando pérdida de control muscular, parálisis y finalmente la muerte. El modelo murino transgénico B6SJL-Tg(SOD1*G93A)1Gur/J) contiene múltiples copias del gen humano SOD1 con la mutación G93A, asociada a formas familiares de ELA. Este modelo es actualmente el más utilizado a nivel mundial para estudios preclínicos, ya que reproduce fielmente las características clínicas y patológicas de la enfermedad en humanos.

Los primeros signos de afectación neuromuscular se detectan mediante electromiografía hacia los 60 días de edad, antes de la aparición de síntomas clínicos evidentes. A los 90 días, los animales desarrollan debilidad progresiva, temblores, pérdida de peso y disminución en la actividad motora. A los 120 días entran en fase terminal, con movilidad severamente limitada. La mayoría muere entre los 130 y 160 días.

La progresión de la enfermedad se monitoriza mediante evaluaciones funcionales semanales. Se incluye la prueba de la rejilla, que mide la fuerza muscular de las extremidades, y el rotarod, que evalúa coordinación y resistencia motora. Estos ensayos permiten seguir el deterioro funcional y determinar la eficacia de tratamientos.

Además, se realiza un seguimiento detallado de la longevidad, un parámetro clave en estudios preclínicos para evaluar el impacto global del tratamiento. Un aumento en la supervivencia es un indicador relevante de eficacia terapéutica.

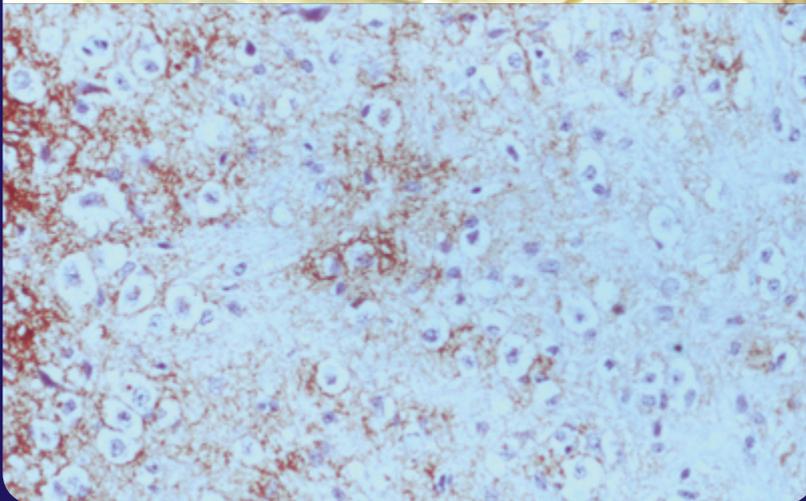
También se llevan a cabo análisis moleculares y bioquímicos dirigidos a biomarcadores específicos de la enfermedad, una línea de trabajo desarrollada por el grupo durante casi 20 años. Estos biomarcadores, basados en proteínas y RNA (codificante y no codificante), se analizan en tejido muscular y en regiones clave del sistema nervioso central como la médula espinal y la corteza motora. Su estudio permite evaluar la progresión patológica y los efectos de las terapias a nivel celular y molecular.

Este modelo representa una herramienta fundamental para el estudio de la ELA por su alta reproducibilidad, valor fisiopatológico y capacidad para generar datos robustos en estudios de eficacia preclínica.

Gurney ME, Pu H, Chiu AY, Dal Canto MC, Polchow CY, Alexander DD, et al. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. Science. 1994 Jun 17;264(5166):1772–1775.

02. Modelo de enfermedades priónicas

02 Modelo



Área:
Neurociencias

Nombre del modelo:
Ratón transgénico Tg338

Especie animal:
Ratón (*Mus musculus*)

Fondo genético:
C57BL/63 x CBA

Breve descripción:
Ratones transgénicos que sobre-expresan el gen PRNP (VRQ/VRQ), lo que les hace altamente susceptibles a la inoculación de la proteína PrP^{Sc} del scrapie. Los animales se encuentran alojados en un Laboratorio BSL-3.

Contacto:

 Alicia Otero García

 aliciaogar@unizar.es

 Centro de Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes

 Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

Los ratones Tg338 son una línea transgénica para el alelo VRQ del gen *PRNP* ovino (136Val 154Arg 171Gln) en un fondo PrP^{-/-} de ratón. En las ovejas, el alelo VRQ se ha asociado con una alta susceptibilidad a la enfermedad y un periodo de incubación más corto. En los ratones Tg338 el nivel de expresión del gen *PRNP* en el cerebro es de 8 a 10 veces mayor que en las ovejas, lo que hace que este modelo presente una alta susceptibilidad a la inoculación de la proteína PrP^{Sc} así como uno de los periodos de incubación más cortos de los modelos de estas enfermedades. Este modelo fue desarrollado por investigadores del *Institut National de la Recherche Agronomique* de Jouy-en-Josas, Francia (Vilotte JL et al., 2001)

Los ratones Tg338 son utilizados en estudios de caracterización de cepas priónicas, determinación de la presencia de infectividad en tejidos o materiales, análisis de los mecanismos de transmisión, propagación y patogénesis las enfermedades priónicas, desarrollo de técnicas de diagnóstico o valoración de la eficacia de posibles terapias frente a estas enfermedades.

Los ratones Tg338 desarrollan una encefalopatía espongiiforme transmisible tras la inoculación de la PrP^{Sc} por diversas vías. La inoculación intracerebral es una de las vías

más utilizadas, ya que permite una transmisión rápida de la enfermedad. La inoculación oral, aunque es menos eficiente que la intracerebral, permite simular la transmisión de la enfermedad por el consumo de alimentos contaminados con priones o por contaminación del medio ambiente. En términos generales, el periodo de incubación en ratones Tg338 inoculados con PrP^{Sc} oscila entre 75 y 195 días, dependiendo de varios factores como la vía de inoculación, la cepa del prión utilizada o las condiciones experimentales. La enfermedad progresa rápidamente con los ratones mostrando síntomas de ataxia, pérdida de peso y cambios en el comportamiento. El diagnóstico de la enfermedad se realiza post mortem mediante el examen histopatológico del sistema nervioso central y técnicas de detección de la proteína prión, principalmente inmunohistoquímica, Western Blot y PMCA.

Vilotte JL et al., Markedly increased susceptibility to natural sheep scrapie of transgenic mice expressing ovine prp. *J Virol.* 2001; 75(13):5977-84

03. Modelo de adenocarcinoma de próstata humano

03 Modelo


Área:

Oncología

Nombre del modelo:

Ratón atímico Swiss nude

Especie animal:

Ratón (*Mus musculus*)

Fondo genético:

Ratón macho atímico Swiss Nude homocigoto nu/un. Crl: UN(Ico)-Foxn1 nu

Breve descripción:

Modelo experimental de adenocarcinoma de próstata humano dependiente de andrógenos. Consiste en una línea celular derivada de un cáncer primario de próstata que se mantiene estabilizada como xenoinjerto tumoral en ratón atímico nude.

Contacto:

👤 Eva Barrio

✉ evbarrio@unizar.es

🏢 Departamento de Anatomía e Histología Humana

📍 Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

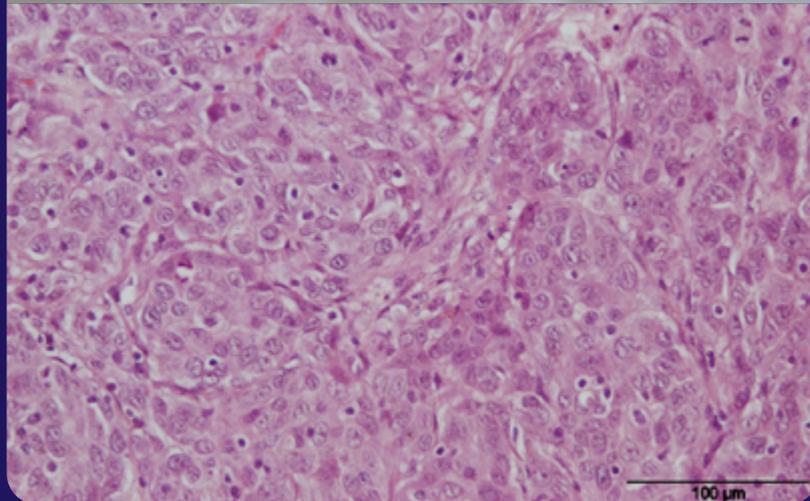
Modelo experimental in vivo de adenocarcinoma de próstata humano dependiente de andrógenos. Actualmente las líneas celulares derivadas de tumores primarios de próstata son escasas y en general proceden de diseminaciones metastásicas o de transfectar con virus las células neoplásicas originales para inmortalizarlas. Consecuentemente son poco representativas del tumor original y por ello es imprescindible disponer de modelos in vivo que reproduzcan el desarrollo del tumor primario humano y posibiliten el estudio de su progresión y dependencia hormonal y la realización de ensayos preclínicos in vivo para evaluar nuevas terapias antitumorales. En este modelo se ha inmortalizado el tejido tumoral de un adenocarcinoma humano primario de próstata.

El modelo experimental permite analizar tanto la respuesta propia del tumor frente a protocolos terapéuticos así como la respuesta y efectos secundarios de dicho protocolo en el huésped ratón nude, mamífero clásicamente empleado en la investigación traslacional a la clínica humana. Consiste en una línea celular continua contemporánea derivada de un cáncer primario de próstata humana que es tumorigénica en el ratón atímico nude desarrollando en este huésped tumores caracterizados como adenocarcinomas de próstata. La línea celular se mantiene estabilizada como xenoinjerto tumoral

en ratón atímico nude, conserva la hormono-sensibilidad y características propias del tumor primario del que deriva. Tras la implantación, se obtiene una masa tumoral de 2000 mm³ en 3 meses.

04. Modelo de carcinoma VX2

04 Modelo


Área:

Oncología

Nombre del modelo:

Modelo de carcinoma VX2

Especie animal:

Conejo (*Oryctolagus cuniculus*)

Fondo genético:

Tipo salvaje

Breve descripción:

El modelo tumoral VX2 es un carcinoma anaplásico de células escamosas. Se trata de un tumor que presenta un crecimiento rápido muy invasivo y con una alta letalidad. El tumor VX2 puede trasplantarse de un animal y puede crecer en cualquier órgano o tejido injertado.

Contacto:

 José Aramayona

 aramayon@unizar.es

 Departamento de Farmacología, Fisiología y Medicina Legal y Forense

 Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

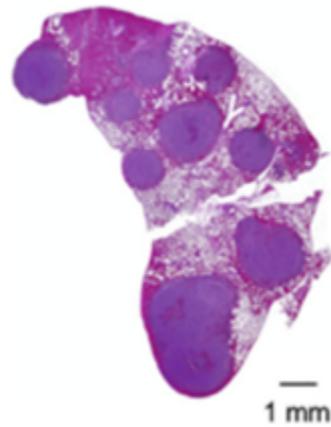
El tumor VX2 en conejos es un modelo tumoral animal desarrollado por Kid and Rous en 1938 a partir de la infección del conejo con *Shope papillomavirus*. Se trata de un carcinoma escamoso anaplásico que presenta un crecimiento rápido muy invasivo, con metástasis linfáticas y con una alta letalidad. Una vez desarrollado el carcinoma escamoso anaplásico en un conejo, éste se puede implantar a otros conejos, que desarrollan el tumor de forma rápida y generan metástasis. Desde su desarrollo, este modelo ha sido ampliamente utilizado en oncología experimental.

En el hígado, el tumor se puede inducir mediante la implantación quirúrgica de fragmentos de tumor o mediante la inoculación de células tumorales en los vasos sanguíneos o en el parénquima. La implantación de fragmentos tumorales mediante cirugía quirúrgica presenta unas tasas de éxito próximas al 100% y limita el riesgo de diseminación extrahepática temprana. Inicialmente se induce un único tumor, obteniéndose masas de unos 0,5 cm a los 9 días post-implantación y 1 cm a los 14 días. En la evolución del proceso en este modelo se producen metástasis abdominales y pulmonares a partir del día 21. La ecografía es el método más utilizado para describir la evolución de estos tumores.

El tumor VX2 normalmente está rodeado por una cantidad variable de tejido conectivo y compuesto por láminas y lóbulos de células grandes indiferenciadas con una alta proporción núcleo-citoplasma. Tiene una alta tasa de necrosis espontánea y el porcentaje de tumor necrótico aumenta con el tamaño del tumor. Las metástasis generadas presentan características similares a las del tumor original.

05. Modelo de melanoma metastático de pulmón

05 Modelo


Área:

Oncología

Nombre del modelo:

Modelo de melanoma metastático de pulmón

Especie animal:

Ratón

Fondo genético:

C57BL/6JRj

Breve descripción:

Células de melanoma de ratón son inoculadas en ratones singénicos para formar metástasis pulmonares. Modelo muy versátil para estudiar aspectos de inmunidad tumoral en pulmón o evaluar tratamientos oncológicos, incluyendo inmunoterapia.

Contacto:

 Nacho Aguiló

 naguilo@unizar.es

 Departamento de Microbiología, Pediatría, Radiología y Salud Pública.

 Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

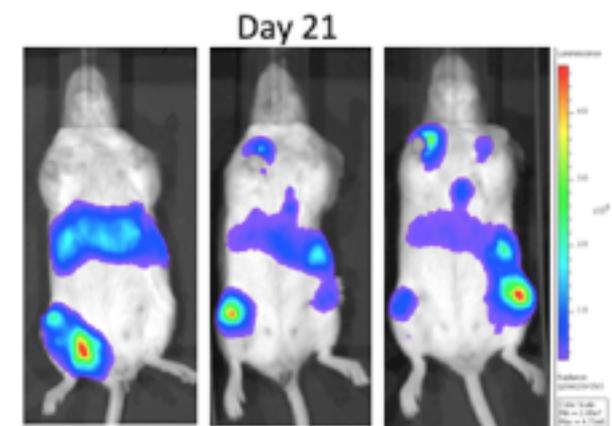
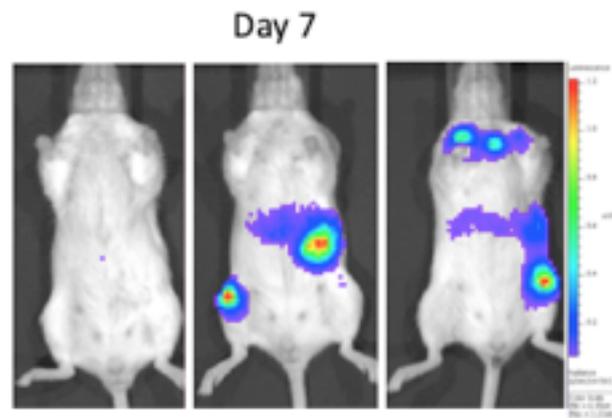
Este modelo consiste en la administración intravenosa de células tumorales B16-F10. Estas células, originalmente procedentes de un melanoma de ratón, tienen la capacidad de formar tumores metastásicos en los pulmones tras ser administradas por vía endovenosa. Además, las células B16-F10 son singénicas del fondo genético de ratón C57BL/6, por lo que este modelo se utiliza en ratones inmunocompetentes.

Tras la inoculación de las células tumorales, estas se transvasan rápidamente al parénquima pulmonar, si bien los tumores comienzan a hacerse visibles tras 8-10 días tras la inoculación. A diferencia de los modelos tumorales subcutáneos, este modelo implica el desarrollo de síntomas asociados a la progresión tumoral, y por tanto, los ratones alcanzan un punto final humanitario y deben ser sacrificados. El tiempo en el que estos síntomas comienzan a hacerse visibles depende de varios factores. Por un lado estaría la cantidad de células a inocular, de manera que a mayor cantidad de células, antes aparecen los síntomas. También influye el estado de las células al ser inoculadas, especialmente el nivel de confluencia en el cultivo antes de su preparación. Por otro lado, también es importante la edad de los ratones, que debería ser superior a las 8 semanas, para permitir que el sistema inmune de los animales haya madurado de manera completa.

Este modelo tiene diferentes aplicaciones prácticas. Puede utilizarse en el contexto de investigación básica, para el estudio de mecanismos fisiológicos de desarrollo de metástasis en pulmón. También para estudiar mecanismos de inmunidad antitumoral, ya que este modelo se desarrolla en ratones inmunocompetentes singénicos a las células. Se puede además combinar con distintos tipos de ratones recombinantes, en moléculas del sistema inmune, por ejemplo, para estudios mecanísticos. Por otro lado, este modelo se puede usar para evaluar tratamientos de inmunoterapia y quimioterapia en metástasis pulmonar.

06. Modelo de mieloma múltiple

06 Modelo



Área:
Oncología

Nombre del modelo:
Ratón

Especie animal:
Ratón (*Mus musculus*)

Fondo genético:
BalB/C

Breve descripción:
Ratones inmunocompetentes Balb/C se inyectan (i.v.) con 3×10^5 células de mieloma MOPC315. BM-Luc2-ZsGreen.

Contacto:

Alberto Anel

anel@unizar.es

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular

Facultad de Ciencias. Universidad de Zaragoza

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

Ratones inmunocompetentes Balb/C se inyectan (i.v.) con 3×10^5 células de mieloma MOPC315.BM-Luc2-ZsGreen. Las células MOPC315.BM muestran tropismo por la médula ósea, como se puede observar en la Figura adjunta.

La proliferación y localización de las células de mieloma se comprueba mediante luminiscencia (p.ej. en un equipo IVIS). También es posible determinar la concentración de inmunoglobulina monoclonal en el suero de los ratones, mediante un ensayo ELISA. El desarrollo de la paraplejía también es un signo de enfermedad.

El tiempo de desarrollo de los experimentos hasta el sacrificio puede oscilar entre los 30 y los 60 días. El desarrollo del mieloma se observa en el IVIS a partir de los 7 días, y los tratamientos se suelen empezar a ese tiempo.

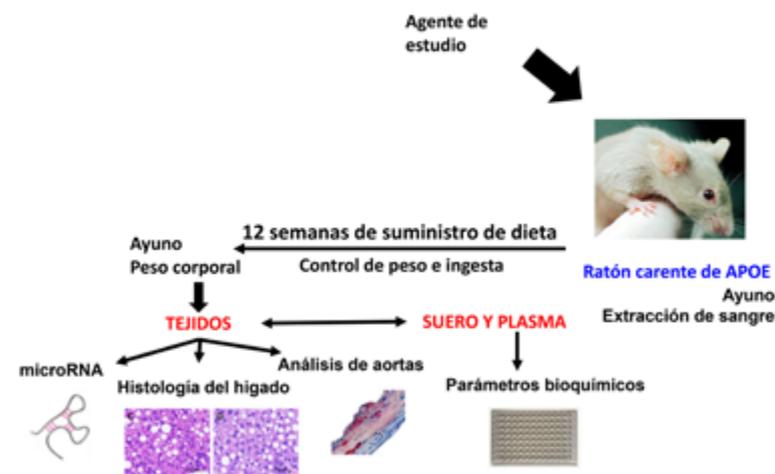
Este modelo está basado en el descrito en el artículo Hofgaard et al. (2012) consiguiendo previamente la expresión estable de luciferasa en las células MOPC315.BM.

Hofgaard PO et al.. A novel mouse model for multiple myeloma (MOPC315.BM) that allows noninvasive spatiotemporal detection of osteolytic disease. PLoS One. 2012;7(12):e51892..

07. Modelo de aterosclerosis e hígado graso no alcohólico

07 Modelo

Planteamiento experimental



Área:

Biomedicina

Nombre del modelo:

Ratón carente del gen de Apoe

Especie animal:

Ratón (*Mus musculus*)

Fondo genético:

C57BL/6J

Breve descripción:

Presenta aterosclerosis e hígado graso espontáneamente con dietas de bajo contenido graso. Estos procesos se aceleran con la administración de dietas de alto contenido graso y colesterol.

Contacto:

👤 Jesús de la Osada García

✉ josada@unizar.es

🏢 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular

📍 Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

El modelo carece de la apolipoproteína E y por ello no puede eliminar los quilomicrones remanentes de la circulación sanguínea¹. A consecuencia de este hecho se acumulan en el espacio subendotelial y se desarrolla la aterosclerosis. También presenta un acúmulo de lípidos en el hígado.

Permite intervenciones tanto farmacológicas como dietéticas para ver su efecto sobre el desarrollo de la aterosclerosis y del hígado graso no alcohólico. Los agentes se administran durante unas 12 semanas y después se procesan las aortas y los hígados. Con estos, se llevan a cabo análisis histomorfométricos o bioquímicos para cuantificar tanto el desarrollo de aterosclerosis como la esteatosis hepática y sus mecanismos moleculares.

Osada J, Joven J, Maeda N. The value of apolipoprotein E knockout mice for studying the effects of dietary fat and cholesterol on atherogenesis. Curr Opin In Lipidol 2000; 11: 25-29.

08. Modelo de Osteoartritis

08 Modelo


Área:

Aparato locomotor

Nombre del modelo:

Osteoartritis inducida por Anfotericina-B en el caballo

Especie animal:

Caballo (*Equus Caballus*)

Fondo genético:

No aplicable

Breve descripción:

Modelos de osteoartritis inducida por Anfotericina-B en el caballo. La Anfotericina-B induce una inflamación aguda en la articulación que desencadena la degradación del cartilago articular y posterior retroalimentación inflamación-degradación que conduce al desarrollo de la osteoartritis.

Contacto:

👤 Laura Barrachina Porcar / Arantzazu Vitoria Moraiz

✉ lbarrach@unizar.es / avm@unizar.es

🏢 Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal / Departamento de Patología Animal

📍 Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza



P-2M
Mayoritariamente lesiones grado 2 a 4

P-6M
Mayoritariamente lesiones grado 3 a 4

CARACTERÍSTICAS DEL MODELO

Se trata de un modelo de inducción química de la osteoartritis basado en una única inyección intraarticular de 25 mg de Anfotericina-B en la articulación radio-carpal del caballo. La Anfotericina-B induce una rápida inflamación al romper los lisosomas celulares y liberar enzimas y mediadores inflamatorios al interior de la articulación. Esta inflamación promueve la degradación del tejido cartilaginosa al activar enzimas catabólicas, y los productos de degradación del cartilago, a su vez, inducen mayor inflamación. De esta forma, se establece una retroalimentación entre la inflamación sinovial y la degradación cartilaginosa que conduce al cuadro de osteoartritis. A diferencia de los modelos de inducción quirúrgica de la osteoartritis, este modelo es más sencillo, económico y rápido de establecer, ya que solo requiere una inyección intraarticular y se obtienen picos máximos de marcadores inflamatorios en torno a las 2-3 semanas, con cambios macroscópicos en la superficie articular a partir de los dos meses.

El caballo es un modelo animal de gran valor traslacional para el estudio de patologías del sistema locomotor, como la osteoartritis, debido a la similitud de su anatomía musculoesquelética con la humana. Su uso como animal de deporte lo expone a lesiones comparables a las humanas, y su relevancia veterinaria permite aplicar técnicas avanzadas

de diagnóstico (examen de cojera, radiografía, ecografía, resonancia magnética). Además, su gran tamaño facilita la obtención de muestras biológicas en cantidad suficiente para análisis moleculares e histológicos, lo que conforma una plataforma de gran utilidad para desarrollar y validar terapias tanto en medicina humana como veterinaria.

CONVENIO DE COLABORACIÓN ENTRE EL GOBIERNO DE ARAGÓN, EL INSTITUTO ARAGONÉS DE CIENCIAS DE LA SALUD, LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA Y EL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA DE ARAGÓN PARA LA EJECUCIÓN DE LÍNEAS DE ACTUACIÓN DE I+D+I CORRESPONDIENTES ALPROGRAMA DE BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA SALUD EN EL MARCO DE LOS PLANES COMPLEMENTARIOS PREVISTOS EN EL PLAN DE RECUPERACIÓN, TRANSFORMACION Y RESILIENCIA-MRR.

