

¿Importa la edad? El impacto de la edad de los roedores en los resultados del estudio

Versión española del artículo original:

Does age matter? The impact of rodent age on study outcomes

Samuel J Jackson^{1,*}, Nick Andrews², Doug Ball³, Ilaria Bellantuono⁴, James Gray³, Lamia Hachoumi⁵, Alan Holmes⁶, Judy Latcham⁷, Anja Petrie⁸, Paul Potter⁹, Andrew Rice¹⁰, Alison Ritchie¹¹, Michelle Stewart¹², Carol Strepka¹³, Mark Yeoman⁵ and Kathryn Chapman¹

Laboratory Animals 2017, Vol. 51(2) 160–169
DOI: 10.1177/0023677216653984

Laboratory Animals

THE INTERNATIONAL JOURNAL OF
LABORATORY ANIMAL SCIENCE, MEDICINE,
TECHNOLOGY AND WELFARE

*Official Journal of AFSTAL, DALAS, ECLAM, ESLAV, FELASA
GV-SOLAS, ILAF, LASA, SECAL, SGV, SPCAL*



journals.sagepub.com/home/lan

Published on behalf of Laboratory Animals Ltd.
by SAGE Publications Ltd



Este artículo ha sido traducido por: Gloria Martínez García
Revisado por: José Luís Martín Barrasa DVM PhD
Coordinación: Jesús Martínez Palacio

Nuestro agradecimiento al Consejo de Dirección de Laboratory Animals Limited y a SECAL por el patrocinio y colaboración en esta traducción.



¿Importa la edad? El impacto de la edad de los roedores en los resultados del estudio

Samuel J Jackson^{1*}, Nick Andrews², Doug Ball³,
Ilaria Bellantuono⁴, James Gray⁵, Lamia Hachoumi⁶,
Alan Holmes⁷, Judy Latcham⁸, Anja Petrie⁹, Paul Potter¹⁰,
Andrew Rice¹¹, Alison Ritchie¹², Michelle Stewart¹³,
Carol Strepka¹⁴, Mark Yeoman¹⁵ and Kathryn Chapman¹⁶

Resumen

Los modelos de roedores producen datos que respaldan la investigación biomédica y los ensayos de fármacos no clínicos, pero a menudo falta la conversión de resultados en roedores a resultados clínicos exitosos. Es cada vez más evidente que la mejora del diseño experimental es clave para mejorar la naturaleza predictiva de los estudios con roedores y reducir el número de animales utilizados en la investigación. La edad, un factor importante en el diseño experimental, a menudo no se registra adecuadamente y puede ser pasada por alto. Los autores realizaron una encuesta para evaluar la edad utilizada para una serie de modelos y el razonamiento existente detrás de la elección de distintas edades. De 297 encuestados que proporcionaron 611 respuestas, los investigadores registraron un uso frecuente de roedores de entre 6 y 20 semanas de edad, independientemente de su estudio biológico. La edad que los encuestados denominaron como "adulta" varió entre 6 y 20 semanas. Se dieron con frecuencia razones prácticas para la elección de la edad de los roedores, siendo, dos factores decisivos, el mayor costo asociado con el uso de animales mayores y el mantenimiento de la comparación de los datos históricos. Estos resultados destacan que la elección de la edad es inconsistente en la comunidad de investigadores y, a menudo, no se basa en el desarrollo o el envejecimiento celular del sistema estudiado. Esto potencialmente podría resultar en una disminución de la validez científica y un aumento de la variabilidad experimental. En algunos casos, el uso de animales mayores podría ser beneficioso. Un mayor rigor científico en la elección de la edad de los roedores podría aumentar la conversión de modelos de roedores a humanos.

Palabras clave

Roedor, edad, diseño experimental, desarrollo, senectud

¹National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research, London, UK

²Division of Neurology, Kirby Center for Neurobiology, Boston Children's Hospital, Boston, US

³Immunoinflammation TAU, GlaxoSmithKline, Stevenage, UK

⁴Centre for Integrated Research into Musculoskeletal Ageing, University of Sheffield, Sheffield, UK

⁵Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton, Brighton, UK

⁶Centre for Rheumatology, UCL Division of Medicine, Royal Free Campus, London, UK

⁷Laboratory Animal Science, GlaxoSmithKline, Stevenage, UK

⁸Rowett Institute of Nutrition & Health, University of Aberdeen, Aberdeen, UK

⁹Disease Models and Translation, Mammalian Genetics Unit, MRC

Harwell, Harwell, UK

¹⁰Pain Research, Department of Surgery & Cancer, Imperial College London, London, UK

¹¹Division of Cancer & Stem Cells, University of Nottingham, Nottingham, UK

¹²The Mary Lyon Centre, MRC Harwell, Harwell, UK

¹³Preclinical Services, Charles River, Edinburgh, UK

¹⁴*Dr Samuel J Jackson accepts direct responsibility for the manuscript on behalf of the author group

Corresponding author:

Dr S J Jackson, The National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research, Gibbs Building, 215 Euston Road, London NW1 2BE, UK.

Email: sam.jackson@nc3rs.org.uk

Los mamíferos más utilizados en la investigación científica son los roedores, predominantemente ratas y ratones. Hay varios factores experimentales que son críticos para la calidad de los datos obtenidos de modelos de roedores y estos factores difieren según el requerimiento del experimento¹. Estudios previos han mostrado que la información sobre experimentos animales en las publicaciones sometidas a revisión por pares es deficiente debido a la omisión de detalles de diseño experimental tales como el cegamiento, la aleatoriedad, y detalles sobre raza, sexo y edad^{2,3}.

Existen diferencias significativas entre animales jóvenes y de edad avanzada con la enfermedad relevante en comparación con los animales de mediana edad, y estas diferencias podrían afectar al resultado de los estudios que investigan la biología de las enfermedades básicas, mecanismos de acción y eficacia farmacológica. La elección inconsistente de la edad en modelos de roedores entre experimentos o laboratorios tiene el potencial de impactar en la calidad de los datos, pudiendo aumentar la variabilidad y reducir la relevancia para la enfermedad humana sujeto de estudio. En estudios básicos o mecanicistas, las vías biológicas o los mecanismos de acción pueden verse oscurecidos por la variabilidad inter-animal derivada de animales con una edad inadecuada. En el desarrollo de fármacos, la conversión de compuestos desde la investigación no clínica a los ensayos clínicos en fase II, se ha demostrado que es precaria en muchas áreas terapéuticas, con una falta de modelos predictivos de roedores para enfermedades humanas en parte responsables del desgaste natural^{4,5}. El uso de una edad animal sub-óptima y variable podría estar contribuyendo a esto.

La edad a la que los modelos animales son comúnmente usados es de 8-12 semanas. En este rango de edad, muchos procesos de desarrollo se encuentran en curso⁶⁻¹¹, y los cambios fisiológicos con la edad pueden tener un gran impacto en las variables experimentales. Por ejemplo:

- La masa ósea máxima no se alcanza hasta alrededor de las 26 semanas de edad en roedores^{7,12,13}.
- El desarrollo del sistema inmune está determinado por cambios en el tamaño del timo y del contenido celular durante el desarrollo temprano^{14,15}, además de marcadores inmunológicos clave¹⁶. Se ha demostrado que las células B tienen un fenotipo inmaduro hasta las cuatro semanas de edad¹⁷, las reacciones de las células T maduran alrededor de las ocho semanas de edad¹⁸, y la producción de linfocitos T y B aumenta después de las primeras 26 semanas de vida¹⁹.
- El crecimiento cerebral significativo en las ratas está en desarrollo hasta las nueve semanas de vida⁶ y la mielinización del sistema nervioso central en estructuras límbicas no se completa hasta las seis semanas de edad¹⁰, el desarrollo de la médula espinal del ratón, el hipocampo y las estructuras olfativas está en desarrollo hasta las 11 semanas de edad¹¹.

Además, los animales mayores entrando en senescencia podrían responder de manera distintas a sus equivalentes

más jóvenes.^{13,20-22} Por ejemplo:

- Factores como la menopausia y la vejez son factores de riesgo para enfermedades óseas en humanos, pero se reflejan pobremente en roedores más jóvenes y requieren de una cuidadosa consideración de biomarcadores traslacionales en roedores envejecidos para garantizar la comparación entre especies.²³⁻²⁵
- Se ha documentado el importante efecto de la edad en los modelos de accidente cerebrovascular²⁶⁻²⁸, y se han usado animales jóvenes para estudiar una enfermedad normalmente presente en personas mayores. Las alteraciones en el flujo sanguíneo y en la bioquímica cerebral tienen en humanos un alto impacto con la edad, pero estas patologías no están reflejadas cuando se trabaja con roedores jóvenes. Se ha demostrado que las ratas de edad avanzada muestran una diferencia a la susceptibilidad²⁸, o tardan más en recuperarse²⁹ de accidentes isquémicos.
- Los fenotipos relacionados con la edad están siendo descubiertos en cepas endógamicas de uso común. Por ejemplo, la cepa ampliamente usada de ratones C57BL/6J ha alterado la tolerancia a la glucosa debido a una mutación de sentido erróneo en *nicotamida nucleotido transhidrogenasa (Nnt)*³⁰, lo que tiene implicaciones para fenotipos diabéticos, además de causar disminuciones relacionadas con la edad en funciones mitocondriales³¹⁻³². Además, los ratones C57BL/6J presentan una mutación en el gen *cadherina 23 (Cdh23)*, que resulta en una pérdida de audición³³ con la edad. Esto podría afectar a estudios de comportamiento en el envejecimiento de los ratones.
- El microbioma juega un papel importante en el mantenimiento apropiado del funcionamiento del sistema inmune y la respuesta a enfermedades. El envejecimiento puede afectar a la composición del microbioma del ratón³⁴, y esto se ha demostrado que modula los modelos en ratones de enfermedades alérgicas en las vías respiratorias³⁵, que potencialmente podría reducir la calidad de los datos obtenidos.
- El metabolismo de un fármaco en el hígado tiene un impacto crítico en compuestos administrados sistémicamente, y es por lo tanto de vital importancia durante el desarrollo de nuevos fármacos. La expresión genética de enzimas hepáticas críticas es radicalmente diferente entre sujetos jóvenes y mayores^{36,37}, lo que podría potencialmente conducir a discrepancias o errores que afecten a la selección o desarrollo de candidatos a fármacos.

El National Centre for Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) convocó un grupo de trabajo para conocer la edad de los roedores usados para modelizar fisiología, enfermedades o eficacia de fármacos, y para evaluar su impacto en los resultados científicos, con el objetivo de mejorar la selección de la edad de los modelos de roedores. Aquí, presentamos ejemplos de literatura científica que ilustran la importancia de la elección de edad bien informada, y datos de una

encuesta sobre la edad de los roedores utilizados en la investigación biomédica. Además, se han incluido dos casos basados en datos como material suplementario (Figuras S2 y S3; todo el material complementario puede encontrarse online en <http://lan.sagepub.com>). Mejorando la toma de decisiones sobre la edad de los roedores utilizados en investigaciones biomédicas, el número de animales utilizados podría reducirse mientras se mantiene o se mejora la calidad de los datos.

Métodos

Estudio sobre la edad de los roedores usados

Se formó un grupo de trabajo interdisciplinario, como se refleja en la lista de autores, a partir de un amplio rango de disciplinas con interés en el impacto de la edad de los roedores en los modelos de enfermedad. Para explorar la edad a la que los roedores son actualmente utilizados en investigación, el grupo de trabajo de expertos diseñó una encuesta online con referencia a guías publicadas sobre diseño de encuestas.³⁸ La encuesta solicitó datos sobre el tipo de modelo de roedor utilizado por los investigadores, y la edad seleccionada para el modelo (ver tabla suplementaria S1). Los investigadores podían añadir información de hasta más de cinco modelos distintos. A los investigadores también se les solicitó información adicional sobre por qué fue elegida esa edad específica y pruebas sobre la idoneidad de la edad del modelo. Se utilizó una lista desplegable para establecer las razones de elección de edad (Tabla suplementaria S1 Q4).

La encuesta fue puesta a prueba y perfeccionada dentro del grupo de trabajo, y distribuida como hipervínculo en un mensaje de texto estándar a través de 20 sociedades científicas y organizaciones científicas benéficas, así como a través de científicos individuales y redes científicas. Las disciplinas cubrieron cáncer, enfermedad cardiovascular, endocrinología, inmunología, enfermedad osteomuscular, neurociencia y enfermedad respiratoria, e investigadores académicos y farmacéuticos de Reino Unido y la Unión Europea. Esto permitió la distribución a una muestra representativa de investigadores, como se describe en la sección de Resultados.

El flujo de trabajo del análisis de datos se muestra en la figura complementaria S1. Los datos de la encuesta se hicieron anónimos e inicialmente se analizaron para evaluar información sobre la ubicación y el campo de trabajo del encuestado, y qué modelos fueron representados en el conjunto de datos. Los modelos que no pudieron ser clasificados (ver abajo) o que no presentaban una justificación para la edad, fueron eliminados. Cada modelo fue individualmente clasificado por 'Sistema/Proceso' (ver tabla suplementaria S2) y 'Enfermedad/Trastorno' (una lista de 233 enfermedades y trastornos) según lo definido por el *Wellcome Trust* (Londres, Reino Unido).³⁹

Comparación de la edad usada para el mismo paradigma modelo entre laboratorios. En los casos donde se reportó el mismo modelo en múltiples respuestas, estos fueron agrupados y se registró el rango de edades.

Edad considerada 'adulto'. Donde la elección de edad fue justificada describiendo al animal como 'adulto', el rango de edad se trazó como un gráfico de frecuencia.

Resultados

Teniendo en cuenta las publicaciones acerca de los cambios en el modelado de enfermedades en roedores con la edad, se realizó una encuesta diseñada para recopilar información sobre la edad a la que los investigadores usaban los roedores para modelar enfermedades o fisiología humanas. Se puede encontrar una descripción esquemática del flujo de trabajo seguido en la figura complementaria S1.

Hubo 297 encuestados, predominantemente del sector académico (80%), con un 18% del sector farmacéutico. La información de la ubicación fue proporcionada por 108 encuestados (35% del total) que demostró que las respuestas provenían de 27 ubicaciones distintas dentro del Reino Unido y de 31 ubicaciones fuera de éste.

La encuesta permitió hasta cuatro respuestas por cada encuestado. El número total de respuestas recibidas fue de 611, aportando una representación de diversas disciplinas incluyendo la neurociencia, la inmunología, el cáncer, la genética, la fisiología y la toxicología. El rango de edades referido fue amplio (2-160 semanas), pero estaba muy agrupado alrededor del rango de 8-12 semanas para ratones y ratas.

Cuando el mismo modelo de paradigma se reportó repetidas veces, fue posible la comparación de la edad utilizada entre diferentes laboratorios. La figura 1 ilustra el rango de edades utilizadas para cada modelo. Esto demuestra que investigadores de distintos laboratorios utilizaron diferentes edades de animales para el mismo paradigma experimental.

Un 11,5% de las respuestas citaron que la razón para la elección de la edad fue que el roedor fuera "adulto". Sin embargo, el rango de edad durante el cual se aplicó el término "adulto" varió entre las 6 y las 20 semanas (Figura 2). Esto ilustra la posible discrepancia cuando se usan descripciones generales de la edad de los roedores.

El diez por ciento del total describió un uso de roedores mayores de 16 semanas de edad (24% de estos en ratas y 76% en ratones). La edad en estos casos fue justificada por una de estas cuatro razones: la aparición de enfermedades en roedores no ocurrió hasta que pasaron más de 16 semanas (39%); los investigadores querían obtener puntos de enfermedad avanzados, incluidas comorbilidades que ocurrieron después de 16 semanas (33%); el animal era de un tamaño suficiente para realizar la cirugía (10%); el modelo era de una enfermedad de mayor edad en humanos (18%).

Se utilizó una lista desplegable para registrar los motivos detrás de la elección de la edad. Los encuestados proporcionaron 704 respuestas, siendo las razones más citadas para la elección de edad la comparación de datos históricos (24%), oferta/disponibilidad (18%) y coste (15%). Cuando estas razones se dividieron entre encuestados del ámbito académico y de la industria, se

hizo evidente una diferencia (Figura 3). Los encuestados del ámbito académico citaron el coste de los animales como el factor que más les afectó a la hora de elegir la edad de los roedores (18% ámbito académico vs. 6% industria),

mientras que en el ámbito industrial los encuestados informaron que la comparación de datos históricos fue la razón más influyente en la elección de la edad del roedor (28% industria vs 23% académico).

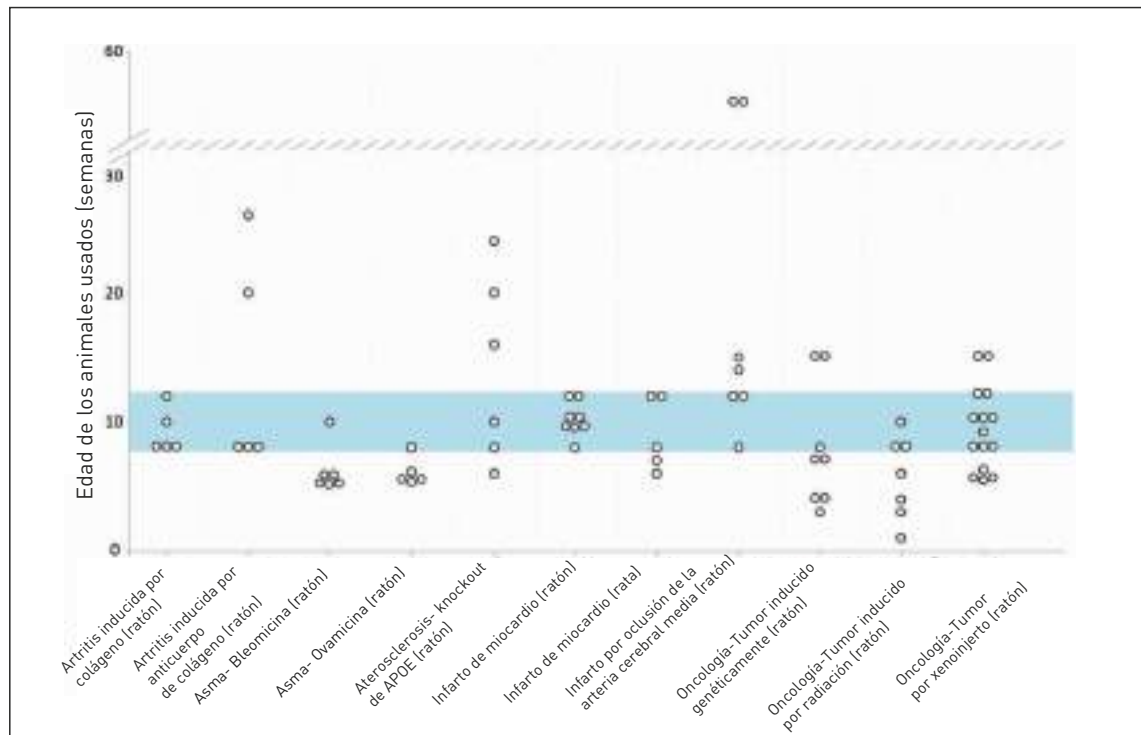


Figura 1. Rangos de edad referidos para modelos específicos. Cuando un modelo se describió suficientemente, hubo oportunidad de comparar la edad de sistemas de modelos a través de las respuestas. Los encuestados describieron que se usó un rango de edades de roedores para cada modelo dado. Las edades usadas en todos los modelos se agruparon alrededor del rango de 8 a 12 semanas, independientemente de la biología estudiada. El uso de algunas edades, especialmente en los extremos bajos y altos, estaba justificado por un razonamiento biológico específico.

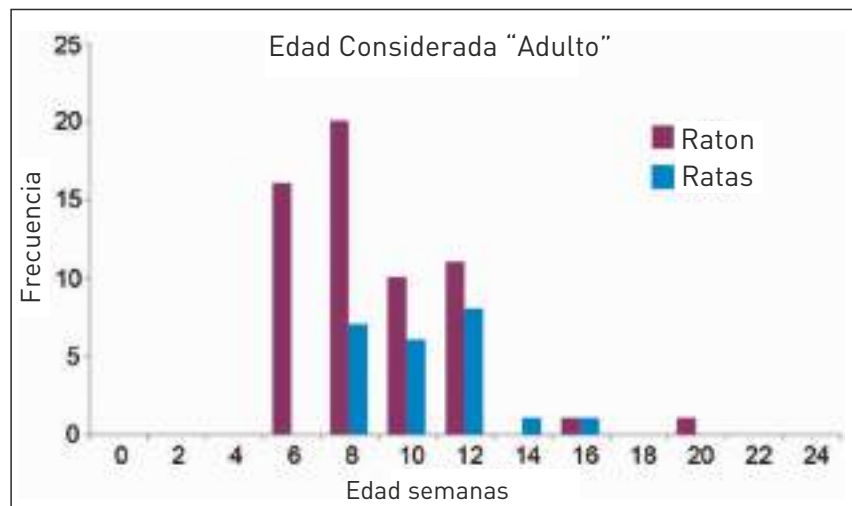


Figura 2: Edad considerada adulta: se identificaron los modelos descritos como "adulto" y las edades se representaron como frecuencias. Esto ilustra cómo la descripción de "adulto" puede abarcar un amplio rango de edades, entre las seis y las 20 semanas para ratones, y entre ocho y 16 semanas en el caso de las ratas. Estas edades abarcan el proceso de desarrollo de un rango de sistemas que podrían afectar negativamente a los resultados de un experimento. Esto podría evitarse basando la elección de edad en el desarrollo del sistema que se examina. Además, se deben registrar las edades precisas en lugar de un término ambiguo como "adulto".

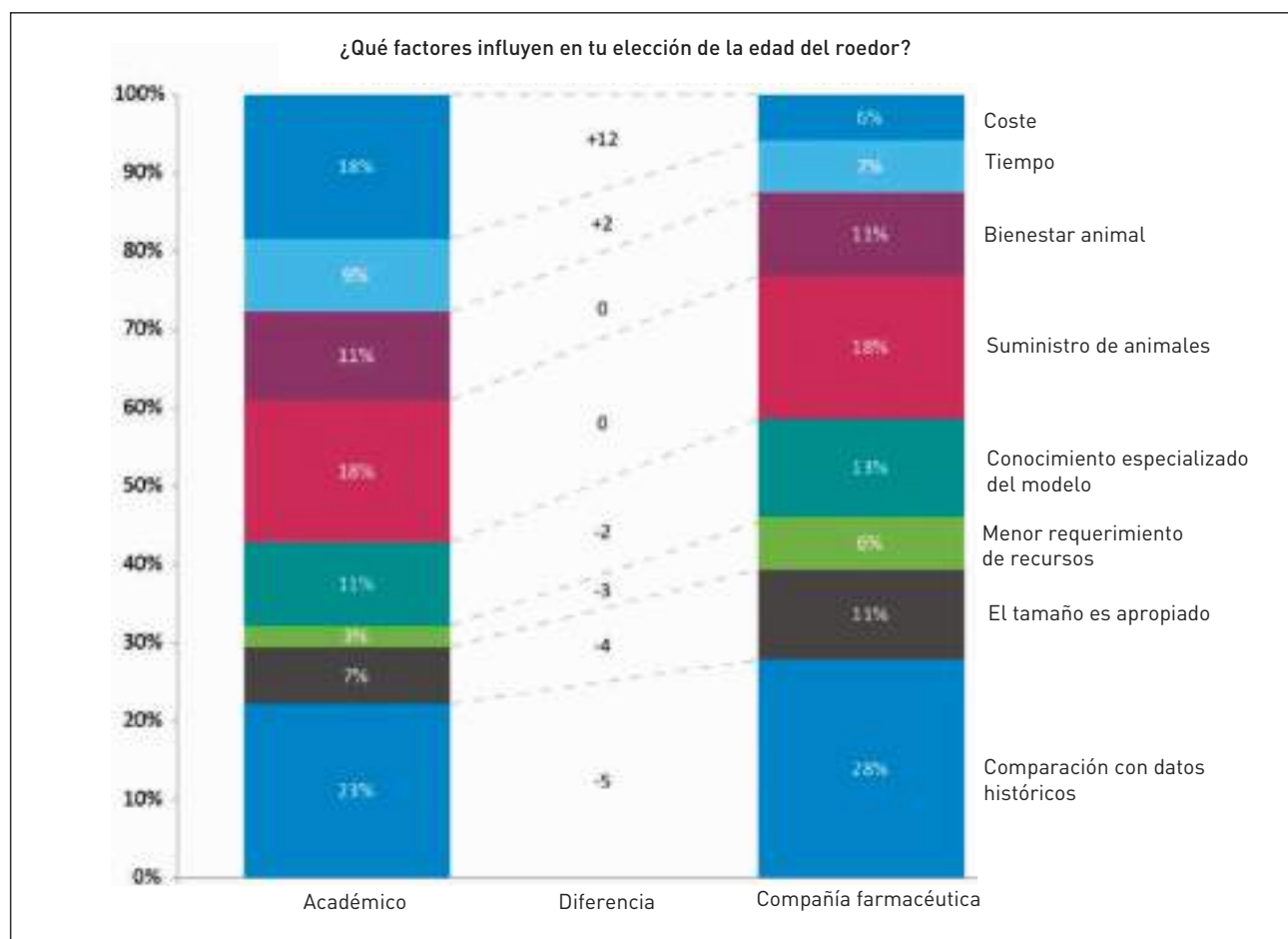


Figura 3. Factores que influyen en la elección de la edad del roedor: respuestas de científicos académicos vs. científicos de la industria. Se pidió a los encuestados que eligieran una o varias razones para la elección de la edad de una lista desplegable. Los académicos estaban más preocupados por el coste de los animales (18% de los académicos contra 6% de la industria), mientras que los científicos de la industria estaban un poco más preocupados por la comparación de datos históricos (23% académicos contra 28% de la industria). Esto ilustra que los factores “prácticos” pueden afectar a la elección de la edad, y que estos, además, difieren entre el ámbito académico y el ámbito de la industria.

Discusión

Tomando en conjunto estos datos se demuestra que: (1) elegir una edad relevante para la enfermedad que se está estudiando puede tener un impacto crítico en la eficacia del modelo; (2) la edad del roedor a menudo se basa en consideraciones prácticas o por convención; y (3) la edad del roedor referido como “adulto” entre estudios y laboratorios es inconsistente.

Informe

Dado que en las publicaciones la información sobre la edad de los animales y el razonamiento detrás de esa decisión han sido escasos¹, la elección de edad a menudo se basa en convenciones o evidencia anecdótica. Las pautas ARRIVE de NC3R² establecen las características del diseño experimental de las que se deberá informar para aumentar la reproductibilidad y la transparencia de los experimentos in

vivo, incluidas las edades de los animales usados. Adoptar las directrices ARRIVE de forma más generalizada y estricta asegurará que los datos sobre la edad de los animales sean más coherentes en el futuro.

Coherencia en la elección de la edad

La mayoría de las respuestas describieron el uso de animales entre ocho y 12 semanas, con un rango desde las 2 a las 120 semanas de edad. Cuando el mismo modelo de paradigma fue descrito en múltiples respuestas, estas se compararon; la edad utilizada varió en un rango de hasta 20 semanas. Esta discrepancia en la edad de los animales utilizados entre distintos laboratorios que usan el mismo modelo podría conducir a la variabilidad de los datos obtenidos entre esos laboratorios. Cuando la edad de los roedores no se reporta con precisión, no se puede tener en cuenta en experimentos posteriores, y esto puede llevar a que los resultados no se puedan repetir en otros lugares.

Esto ilustra la importancia de utilizar protocolos estandarizados o consensuados.

Edad considerada “adulta”

Al examinar las respuestas que indicaban el uso de la edad representada como “adulto”, se descubrió la disparidad en el uso de esta terminología. El uso de “adulto” en este contexto es probable que esté relacionado con la madurez sexual del roedor. De hecho, los roedores son sexualmente maduros y capaces de reproducirse alrededor de las cinco semanas de vida⁴⁰⁻⁴². Sin embargo, este no es fundamento suficiente para considerar que el animal está completamente desarrollado. Muchos sistemas son inmaduros a esta edad y pueden tardar semanas o meses en desarrollarse hasta la madurez. Además, puede haber diferencias en la madurez de diferentes cepas a una edad particular^{43,44}. La madurez del sistema puede afectar significativamente al resultado del experimento, como se demuestra en los ejemplos citados en este estudio. “Adulto” se definiría de manera distinta en muchos de estos ejemplos; por lo tanto, esta u otra terminología que se refiere a una “etapa de la vida” debería ser remplazada por la edad real utilizada al diseñar, documentar e informar un experimento. Cuando en las respuestas se hizo alusión a animales mayores de 16 semanas de edad, el rango de razones que justificasen esta elección fue muy limitado: relacionadas con la biología del animal o bien con la enfermedad humana que se está modelando. Esto refleja el hecho de que es probable que los animales de más edad solo se usen aduciendo a un atributo biológico específico relacionado con el envejecimiento; este principio se aplica rara vez en el caso de roedores más jóvenes.

Razones para la elección de edad

Al recopilar datos cualitativos sobre las razones para la elección de la edad en una amplia gama de modelos de roedores, hemos demostrado que el “coste” y el “suministro” son únicamente superados por la “comparación de datos históricos” como razones para elegir la edad del roedor para un estudio. La presión del coste es particularmente evidente cuando los encuestados académicos se analizan por separado a los encuestados de las compañías farmacéuticas. Varios encuestados académicos comentaron que el coste impedía el uso de animales de mayor edad y que incluir costes más elevados para animales de edad avanzada parecería poco atractivo para la solicitud de subvención. La comparación del coste de animales de seis y 12 semanas de un proveedor comercial importante para los mercados del Reino Unido y los Estados Unidos ilustra este problema: la compra de animales de 12 semanas resulta en un aumento de costos de al menos un 50% por animal, a veces cerca del 100% (Tabla 1). Los investigadores que compren animales jóvenes y los críen internamente también se enfrentarán a un aumento del coste en alojamiento y cría durante este período. Para apoyar estudios de roedores más robustos y predictivos, los organismos de financiación y los investigadores necesitarán

trabajar juntos para desarrollar una estrategia que tenga en cuenta que el uso de roedores de mayor edad puede ser beneficioso para la calidad de los datos y para el uso apropiado de animales, y que justifiquen evaluar el aumento de costes de los animales en las solicitudes de subvención.

Tabla 1: Porcentaje de aumento en coste de roedores de 12 semanas de edad comparado con roedores de 6 semanas de edad.

	C57BL/6J	BALB/c	SD	Wistar
Proveedor Comercial de UK	57	91	69	98
Proveedor Comercial de US	82	68	95	76

Fuente: laboratorio proveedor comercial (revisado Agosto 2015). SD: Sprague-Dawley

Comparación entre ratones y humanos

Algunos encuestados indicaron que usaron una edad determinada de roedor ya que era equivalente a la del modelo humano. Las edades equivalentes entre roedores y humanos se han definido comparando tasas de supervivencia entre ratones y humanos a lo largo de su vida útil. Por ejemplo, un estudio⁴¹ definió un ratón C57BL6/J adulto como 3-6 meses (equivalente en este análisis a 20-30 años humanos), un ratón de mediana edad como de 10-14 meses (equivalente a 38-47 años humanos) y un ratón de edad avanzada como de 18.24 meses (equivalente a 56-69 años humanos). El ratón adulto maduro representa una etapa en la que el desarrollo ha cesado, pero la senescencia aún no ha comenzado, y se recomienda como la edad comparativa para estudios sobre los efectos del envejecimiento. Con este enfoque, 12 semanas debería ser el mínimo para un modelo de enfermedad en adultos. De manera similar, se han publicado cálculos para determinar edades de ratas y humanos equivalentes que ilustran la discrepancia en la velocidad de desarrollo en diferentes etapas entre humanos y ratas^{40,42}. También se han desarrollado un marco y una herramienta en línea para traducir el desarrollo neurológico entre múltiples especies, incluidas roedores y humanos.^{45,46}

Bases de datos e intercambio de información

La Base de Datos Mouse Phenome^{47,48} (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, EE. UU.) fue el recurso más frecuentemente citado en el cuestionario para evaluar la edad apropiada para los ratones. Otros recursos citados incluyen la base de conocimiento Age-Phenome⁴⁹ (Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel) que permite el acceso a publicaciones basadas en búsquedas de edad, fenotipo o ambos, en ratones y en humanos. No hay disponibles recursos similares para ratas, pero la Base de Datos Rat Genome (Bioinformatics Research Center, Milwaukee, WI, EE. UU.) pretende incluir estos datos en el futuro.⁵⁰

Para facilitar estudios sobre la edad de los roedores y

reducir el número total de animales utilizados, redes como la iniciativa Shared Ageing Research Models (ShARM)⁵¹ tienen como objetivo promover el uso y el conocimiento de los roedores de edad avanzada como modelos de envejecimiento. En los EE. UU., el proyecto Ageing Rodent Colonies en el Instituto Nacional sobre el Envejecimiento (Bethesda, MD, EE. UU.) almacena y cría roedores y tejidos para suministro a investigadores financiados por el Instituto Nacional de la Salud (NIH) que trabajan en el envejecimiento.⁵²

Conclusiones y recomendaciones para mejores ensayos

El uso de edades inconsistentes en muchas áreas de investigación científica puede afectar la calidad de los datos. Aumentando la concienciación de este parámetro experimental básico, puede ser posible mejorar la fiabilidad del modelo y reducir el número de animales utilizados en algunos experimentos. La elección de una edad adecuada y coherente más una mejora en la información sobre la misma, requerirá de la participación de investigadores de los ámbitos académicos y de la industria. Es importante destacar que, dadas las implicaciones del coste del uso de animales mayores, se requiere la participación de organismos de financiación para garantizar que esto se tenga en cuenta en las solicitudes de financiación para la investigación.

Recomendaciones

- La edad de los roedores utilizados en un estudio debería estar basada en el desarrollo o en el envejecimiento celular del sistema o en la enfermedad bajo estudio.
- Es posible que los organismos de financiación y los revisores de subvenciones tengan que tener en cuenta el aumento del coste asociado al uso de animales de mayor edad, y la solicitud de una mayor financiación para estos casos debe ser considerada cuando esté justificada.
- La comunicación eficaz entre los investigadores y el personal técnico/veterinario de los animalarios aumentará la probabilidad de elegir una edad apropiada.
- Informar de forma precisa y coherente sobre la edad en las publicaciones contrastadas permitirá la comparación de la metodología experimental y el desarrollo de mejores prácticas basadas en el consenso.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Scott McCleary e Ian Holyer (GlaxoSmithKline, Stevenage, Reino Unido) por su trabajo en la producción y recopilación de datos incluidos en el estudio del caso complementario 1 de este estudio, y al personal del Centro de Biorecursos de la Universidad de Brighton por su contribución al estudio del caso suplementario 2.

Declaración de Conflicto de Intereses

El(los) autor(es) declara(n) que no existen conflictos de interés potenciales respecto a la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Financiación

El(los) autor(es) no recibieron apoyo financiero para la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Referencias

1. Festing MF and Altman DG. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR J*2002; 43: 244–258.
2. Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M and Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*2010; 8: e1000412.
3. Landis SC, Amara SG, Asadullah K, et al. A call for transparent reporting to optimize the predictive value of preclinical research. *Nature*2012; 490: 187–191.
4. Adams DJ. The Valley of Death in anticancer drug development: a reassessment. *Trends Pharmacol Sci*2012; 33: 173–180.
5. Talevi A, Bellera CL, Di Ianni M, Gantner M, Bruno-Blanch LE and Castro EA. CNS drug development – lost in translation? *Mini Rev Med Chem*2012; 12: 959–970.
6. Bandeira F, Lent R and Herculano-Houzel S. Changing numbers of neuronal and non-neuronal cells underlie postnatal brain growth in the rat. *Proc Natl Acad Sci USA*2009; 106: 14108–14113.
7. Somerville JM, Aspden RM, Armour KE, Armour KJ and Reid DM. Growth of C57BL/6 mice and the material and mechanical properties of cortical bone from the tibia. *Calcif Tissue Int*2004; 74: 469–475.
8. Carnieli DS, Yoshioka E, Silva LF, et al. Inflammation and remodeling in infantile, juvenile, and adult allergic sensitized mice. *Pediatr Pulmonol*2011; 46: 650–665.
9. Astori M, Finke D, Karapetian O and Acha-Orbea H. Development of T–B cell collaboration in neonatal mice. *Int Immunol*1999; 11: 445–451.
10. Downes N and Mullins P. The development of myelin in the brain of the juvenile rat. *Toxicol Pathol* 2013; 42: 913–922.
11. Fu Y, Rusznak Z, Herculano-Houzel S, Watson C and Paxinos G. Cellular composition characterizing postnatal development and maturation of the mouse brain and spinal cord. *Brain Struct Funct*2013; 218: 1337–1354.
12. Brodt MD, Ellis CB and Silva MJ. Growing C57BL/6 mice increase whole bone mechanical properties by increasing geometric and material properties. *J Bone Miner Res*1999; 14: 2159–2166.
13. Halloran BP, Ferguson VL, Simske SJ, Burghardt A, Venton LL and Majumdar S. Changes in bone structure and mass with advancing age in the male C57BL/6J mouse. *J Bone Miner Res*2002; 17: 1044–1050.
14. Holsapple MP, West LJ and Landreth KS. Species comparison of anatomical and functional immune system

- development. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2003; 68: 321–334.
15. Kay MM, Mendoza J, Diven J, Denton T, Union N and Lajiness M. Age-related changes in the immune system of mice of eight medium and long-lived strains and hybrids. I. Organ, cellular, and activity changes. *Mech Ageing Dev* 1979; 11: 295–346.
 16. Velardi A and Cooper MD. An immunofluorescence analysis of the ontogeny of myeloid, T, and B lineage cells in mouse hemopoietic tissues. *J Immunol* 1984; 133: 672–677.
 17. Ghia P, ten Boekel E, Rolink AG and Melchers F. B-cell development: a comparison between mouse and man. *Immunol Today* 1998; 19: 480–485.
 18. Holladay SD and Smialowicz RJ. Development of the murine and human immune system: differential effects of immunotoxins depend on time of exposure. *Environ Health Perspect* 2000; 108(Suppl 3): 463–473.
 19. Kincade PW. Formation of B lymphocytes in fetal and adult life. *Adv Immunol* 1981; 31: 177–245.
 20. Wauthier V, Verbeeck RK and Calderon PB. The effect of ageing on cytochrome p450 enzymes: consequences for drug biotransformation in the elderly. *Curr Med Chem* 2007; 14: 745–757.
 21. Palasz A, Wiaderkiewicz A, Wiaderkiewicz R, et al. Age-related changes in the mRNA levels of CYP1A1, CYP2B1/2 and CYP3A1 isoforms in rat small intestine. *Genes Nutr* 2012; 7: 197–207.
 22. Greaves LC, Barron MJ, Campbell-Shiel G, Kirkwood TB and Turnbull DM. Differences in the accumulation of mitochondrial defects with age in mice and humans. *Mech Ageing Dev* 2011; 132: 588–591.
 23. Nelson JF, Felicio LS, Osterburg HH and Finch CE. Differential contributions of ovarian and extraovarian factors to age-related reductions in plasma estradiol and progesterone during the estrous cycle of C57BL/6J mice. *Endocrinology* 1992; 130: 805–810.
 24. Mobbs CV, Cheyney D, Sinha YN and Finch CE. Age-correlated and ovary-dependent changes in relationships between plasma estradiol and luteinizing hormone, prolactin, and growth hormone in female C57BL/6J mice. *Endocrinology* 1985; 116: 813–820.
 25. Bouxsein ML, Myers KS, Shultz KL, Donahue LR, Rosen CJ and Beamer WG. Ovariectomy-induced bone loss varies among inbred strains of mice. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 1085–1092.
 26. Ankolekar S, Rewell S, Howells DW and Bath PM. The influence of stroke risk factors and comorbidities on assessment of stroke therapies in humans and animals. *Int J Stroke* 2012; 7: 386–397.
 27. Shapira S, Sapir M, Wengier A, Grauer E and Kadar T. Aging has a complex effect on a rat model of ischemic stroke. *Brain Res* 2002; 925: 148–158.
 28. Yager JY and Thornhill JA. The effect of age on susceptibility to hypoxic-ischemic brain damage. *Neurosci Biobehav Rev* 1997; 21: 167–174.
 29. Brown AW, Marlowe KJ and Bjelke B. Age effect on motor recovery in a post-acute animal stroke model. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 607–614.
 30. Toye AA, Lippiat JD, Proks P, et al. A genetic and physiological study of impaired glucose homeostasis control in C57BL/6J mice. *Diabetologia* 2005; 48: 675–686.
 31. Rydstrom J. Mitochondrial NADPH, transhydrogenase and disease. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1757: 721–726.
 32. Ghosh D, Levault KR and Brewer GJ. Relative importance of redox buffers GSH and NAD(P)H in age-related neurodegeneration and Alzheimer disease-like mouse neurons. *Aging Cell* 2014; 13: 631–640.
 33. Johnson KR, Zheng QY and Noben-Trauth K. Strain background effects and genetic modifiers of hearing in mice. *Brain Res* 2006; 1091: 79–88.
 34. Langille MG, Meehan CJ, Koenig JE, et al. Microbial shifts in the aging mouse gut. *Microbiome* 2014; 2: 50.
 35. Vital M, Harkema JR, Rizzo M, Tiedje J and Brandenberger C. Alterations of the murine gut microbiome with age and allergic airway disease. *J Immunol Res* 2015; 2015: 892568.
 36. Mori K, Blackshear PE, Lobenhofer EK, et al. Hepatic transcript levels for genes coding for enzymes associated with xenobiotic metabolism are altered with age. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 242–251.
 37. Pibiri M, Sulas P, Leoni VP, et al. Global gene expression profile of normal and regenerating liver in young and old mice. *Age (Dordr)* 2015; 37: 9796.
 38. Bennett C, Khangura S, Brehaut JC, et al. Reporting guidelines for survey research: an analysis of published guidance and reporting practices. *PLoS Med* 2010; 8: e1001069.
 39. Wellcome. *Subject Classification of Wellcome Trust Grants*. London: Wellcome, 2014.
 40. Quinn R. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? *Nutrition* 2005; 21: 775–777.
 41. Flurkey K, Curren JM and Harrison DE. Mouse models in aging research. In: Fox JG, Davisson MT, Quimby FW, Barthold SW, Newcomer CE and Smith AL (eds) *The mouse in biomedical research*. 2nd ed. Burlington: Academic Press, 2007, pp.637–672.
 42. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with humans. *Int J Prev Med* 2013; 4: 624–630.
 43. Mulvey L, Sinclair A and Selman C. Lifespan modulation in mice and the confounding effects of genetic background. *J Genet Genomics (Yi chuan xue bao)* 2014; 41: 497–503.
 44. Banks G, Heise I, Starbuck B, et al. Genetic background influences age-related decline in visual and nonvisual retinal responses, circadian rhythms, and sleep. *Neurobiol Aging* 2015; 36: 380–393.
 45. Clancy B, Darlington RB and Finlay BL. Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience* 2001; 105: 7–17.
 46. Clancy B, Kersh B, Hyde J, Darlington RB, Anand KJ and Finlay BL. Web-based method for translating neurodevelopment from laboratory species to humans. *Neuroinformatics* 2007; 5: 79–94.
 47. Maddatu TP, Grubb SC, Bult CJ and Bogue MA. Mouse Phenome Database (MPD). *Nucleic Acids Res* 2012; 40: D887–D894.

48. Jackson. *Jackson Laboratories Mouse Phenome Database*. Bar Harbor, ME: Jackson Laboratory, 2014.
49. Geifman N and Rubin E. The mouse age phenome knowledgebase and disease-specific inter-species age mapping. *PLoS One* 2013; 8: e81114.
50. de la Cruz N, Bromberg S, Pasko D, et al. The Rat Genome Database (RGD): developments towards a phenome database. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: D485–D491.
51. Duran AL, Potter P, Wells S, et al. Shared Ageing Research Models (ShARM): a new facility to support ageing research. *Biogerontology* 2013; 14: 789–794.
52. Nadon N. *Aged rodent colonies handbook*. Bethesda, MD: National Institute on Aging, 2014.

Resumen

Los modelos de roedores producen datos que respaldan la investigación biomédica y los ensayos de fármacos no clínicos, pero a menudo falta la conversión de resultados en roedores a resultados clínicos exitosos. Es cada vez más evidente que la mejora del diseño experimental es clave para mejorar la naturaleza predictiva de los estudios con roedores y reducir el número de animales utilizados en la investigación. La edad, un factor importante en el diseño experimental, a menudo no se registra adecuadamente y puede ser pasada por alto. Los autores realizaron una encuesta para evaluar la edad utilizada para una serie de modelos y el razonamiento existente detrás de la elección de distintas edades. De 297 encuestados que proporcionaron 611 respuestas, los investigadores registraron un uso frecuente de roedores de entre 6 y 20 semanas de edad, independientemente de su estudio biológico. La edad que los encuestados denominaron como "adulto" varió entre 6 y 20 semanas. Se dieron con frecuencia razones prácticas para la elección de la edad de los roedores, siendo, dos factores decisivos, el mayor costo asociado con el uso de animales mayores y el mantenimiento de la comparación de los datos históricos. Estos resultados destacan que la elección de la edad es inconsistente en la comunidad de investigadores y, a menudo, no se basa en el desarrollo o el envejecimiento celular del sistema estudiado. Esto potencialmente podría resultar en una disminución de la validez científica y un aumento de la variabilidad experimental. En algunos casos, el uso de animales mayores podría ser beneficioso. Un mayor rigor científico en la elección de la edad de los roedores podría aumentar la conversión de modelos de roedores a humanos.