

Edición en español de:  
Laboratory Animals (1988)22, 195-201

# Laboratory Animals

THE INTERNATIONAL JOURNAL OF  
LABORATORY ANIMAL SCIENCE AND WELFARE

## Pautas del UKCCCR para el bienestar de animales en la neoplasia experimental

Elaboradas para el UKCCCR por una comisión ad hoc compuesta por: Dr. P Workman (*MRC ClinicalOncologyUnit, Cambridge, Presidente*); Dr. A Balmain (*BeatsonInstituteforCancerResearch, Glasgow*); Dr. J A Hickman (*CRC Experimental CancerChemotherapyResearchGroup, Aston*); Dr. N J McNally (vicepresidente, Dr. AM Rohas, *ambos CRC Gray Laboratory, Northwood*); Prof. N AMitchison (*UniversityCollege, Londres*); Dr. C G Pierrepont(*TenovusInstitute, Cardiff*); Don R Raymond (*ICRF, Londres*); Dr. C Rowlatt(*ICRF, Londres*); Dr. T C Stephens (*ICI Pharmaceuticals, Alderley Park, Macclesfield*); y D J Wallace (*Institute of CancerResearch, Londres*). Observador: Dr. D W Straughan(*Home Office*).

**Este artículo ha sido traducido por :** Dra. Clara Martínez Nistal

**Revisado por:** Dr. José Luís Martín Barrasa

**Coordinador:** D. Jesús Martínez Palacio

Editado por:



Publicación patrocinada por:



Nuestro agradecimiento al Consejo de Dirección de *Laboratory Animals Ltd.* por el patrocinio y colaboración en esta traducción.

## Pautas del UKCCCR para el bienestar de animales en la neoplasia experimental

Elaboradas para el UKCCCR por una comisión ad hoc compuesta por: Dr. P Workman (MRC Clinical Oncology Unit, Cambridge, Presidente); Dr. A Balmain (Beatson Institute for Cancer Research, Glasgow); Dr. J A Hickman (CRC Experimental Cancer Chemotherapy Research Group, Aston); Dr. N J McNally (vicepresidente, Dr. AM Rohas, ambos CRC Gray Laboratory, Northwood); Prof. N A Mitchison (University College, Londres); Dr. C G Pierrepont (Tenovus Institute, Cardiff); Don R Raymond (ICRF, Londres); Dr. C Rowlatt (ICRF, Londres); Dr. T C Stephens (ICI Pharmaceuticals, Alderley Park, Macclesfield); y D J Wallace (Institute of Cancer Research, Londres). Observador: Dr. D W Straughan (Home Office).

### Antecedentes y objetivos

Los animales con tumores locales o diseminados son proclives a experimentar dolor y/o sufrimiento, lo que justifica que sean objeto de cuidados y atenciones especiales por parte de todos aquellos responsables de su bienestar. Algunas técnicas asociadas, como la preparación quirúrgica, la irradiación y la administración de fármacos pueden incrementar la severidad de un determinado procedimiento experimental. En reconocimiento de lo cual, el Comité Coordinador del Reino Unido en la Investigación contra el Cáncer (*United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research*, UKCCCR en sus siglas en inglés), en representación de las principales organizaciones benéficas contra el cáncer y el Comité de Investigación contra el Cáncer (MRC en sus siglas en inglés), ha elaborado las siguientes pautas para investigadores que usen animales para modelos de neoplasia experimental. Se ha dado particular énfasis a la predicción y el reconocimiento de efectos adversos y a la implementación de puntos de terminación compasiva. La mayor parte de investigaciones en este campo se llevan a cabo con animales de laboratorio de pequeño tamaño, en especial roedores. Como consecuencia, principalmente hemos tomado como referente las experiencias con estas especies; no obstante, los principios generales pueden aplicarse a cualquier especie animal.

Mientras que reconocemos y promovemos el desarrollo de técnicas alternativas de investigación, que no empleen animales, consideramos que hay muchas preguntas a las que sólo puede responderse mediante el estudio de tumores que se están desarrollando *in vivo*. Tanto el bienestar general de los animales de laboratorio como la implementación de

procedimientos regulados están amparados por la Ley de (Procedimientos Científicos) Animales (*Animals (Scientific Procedures) Act*) (1986), vigente desde el 1 de enero de 1987. Bajo esta Ley todo procedimiento científico que se practique a vertebrados vivos que pueda causar dolor, sufrimiento, malestar, o daño permanente, estará regulado por el Ministerio del Interior y requerirá de una autoridad específica a través de Autorizaciones de Personal y de Proyecto. Las recomendaciones para el alojamiento y cuidados de los animales de laboratorio están especificadas en las Pautas de la Royal Society-UFAW (Parte 1, 1987). Adicionalmente, recomendamos las siguientes referencias para sugerencias sobre la cría de animales en general y sobre técnicas experimentales: Gay (1965), Fowler (1978), Tuffery (1987) y el Institute of Animal Technology (en proceso de edición).

Agradecemos la implementación de esta nueva Ley y las Pautas de la Royal Society/UFAW, y aguardamos la publicación de nuevas directrices provenientes de fuentes expertas. Nuestra intención es que las presentes pautas sean del interés general de quienes llevan a cabo experimentos que implican el desarrollo de tumores en animales de laboratorio, ya sean de aparición espontánea, producidos por trasplante (incluyendo inoculación o hibridoma), o inducidos por agentes carcinógenos o manipulación genética. Pueden ser especialmente útiles para completar solicitudes de autorización de proyectos, en particular la sección 19b (v y vi), que requiere la enumeración por parte de los solicitantes de los *posibles efectos adversos* y su *probabilidad de aparición*, así como los *métodos propuestos para controlar la severidad*, por ejemplo, el uso de *analgésicos*, *anestesia local* o *regional* y *sedación*, y la implementación de *criterios*

*de punto final humanitarios.*

Una característica importante de las presentes guías, es que los procedimientos que se lleven a cabo en animales para la investigación contra el cáncer, y en particular los criterios de punto final humanitarios empleados, estén sujetos a un continuo proceso de mejora. Por lo tanto las pautas se modificarán y actualizarán de acuerdo a estas necesidades y avances. Estas pautas no son obligatorias. El uso de la forma “debería” pretende promover un estándar deseable, el uso de “debe” está restringido solamente a los casos en los que exista una obligación legal.

Las recomendaciones se dividen en dos partes: las recomendaciones generales son aplicables a cualquier procedimiento regulado, y las recomendaciones específicas se refieren directamente a los problemas concretos de la neoplasia experimental. Es importante enfatizar que las guías procedimentales, especialmente respecto a la implementación de criterios de punto final humanitarios, deben adecuarse a la naturaleza específica de cada uno de los modelos experimentales, particulares de neoplasia. A modo de clarificación, el Apéndice proporciona algunos ejemplos de criterios para sistemas tumorales específicos.

## **Recomendaciones**

### *Recomendaciones generales*

1. Las siguientes recomendaciones están basadas en la premisa de que *para cada estudio*, los implicados en el procedimiento evaluarán los posibles efectos adversos para los animales con respecto a los posibles beneficios obtenidos en el experimento. Los beneficios potenciales de la investigación contra el cáncer son evidentes. No obstante, debería considerarse la viabilidad de métodos alternativos que no utilicen animales vivos. En muchos casos el uso de líneas celulares puede ser apropiado.

2. En el caso de que deban utilizarse animales, el nivel de dolor y sufrimiento debe minimizarse mediante el uso racional de anestésicos y analgésicos, el refinamiento de técnicas experimentales, y la pronta implementación de criterios de punto final humanitarios. El personal autorizado deberá ser consciente del nivel de severidad de cada uno de los procedimientos regulados (es decir: leve, moderado, severo, o sin recuperación). El nivel de severidad deberá haberse determinado mediante acuerdo entre el solicitante y el Ministerio del Interior, y tomará en

consideración elementos del procedimiento en sí, la naturaleza y frecuencia de cualquier posible efecto adverso y cualquier medida práctica que vaya a tomarse para minimizar la severidad. La condición de severidad de las Autorizaciones de Personal y de Proyecto requiere que un miembro del personal autorizado notifique a la persona a cuyo nombre esté expedida la Autorización de Proyecto, si uno o más niveles de intensidad han sido, o es posible que sean, sobrepasados. La persona a cuyo nombre esté expedida la Autorización de Proyecto debe notificarlo a la oficina de inspecciones del Ministerio del Interior lo antes posible. Adicionalmente, existe una condición de punto final inviolable en toda Autorización de Personal, que requiere que la persona autorizada sacrifique de forma inmediata (mediante un método indoloro autorizado) a cualquier animal que sufra dolor o sufrimiento intensos que no se puedan aliviar.

3. En el caso de que un procedimiento concreto origina una especial preocupación, esto deberá especificarse en la solicitud para la Autorización de Proyecto, y será necesaria una justificación y definición más detalladas de los límites de severidad. Dichos procedimientos podrán estar sujetos a condiciones adicionales en la Autorización de Personal para controlar el número de animales y/o la severidad. Además, el Ministerio del Interior podrá requerir informes concretos al respecto.

4. Es importante que se lleven a cabo experimentos piloto en un pequeño número de animales antes de poner en práctica nuevos procedimientos a mayor escala. Los experimentos piloto deberían identificar problemas concretos, definir los plazos de eventos críticos y refinar los criterios de punto final humanitarios correspondientes. En todos los experimentos el número de animales debería restringirse al mínimo en correspondencia con el diseño y objetivo del experimento.

5. Todo el personal implicado debería ser consciente de su responsabilidad individual y debería establecerse una clara cadena de comunicación. El proceso de toma de decisiones debería diseñarse de tal forma que, bajo cualquier circunstancia, se tomen rápidamente las medidas adecuadas, con el objetivo de solucionar cualquier posible problema que pueda surgir. Por ejemplo, si la condición clínica de un animal con un tumor empeora de forma inesperada, o si los efectos individuales de un tumor y su tratamiento

terapéutico son difíciles de distinguir (véase sección 3.5).

6. Todo el personal implicado debería estar sujeto a preparación adecuada y supervisión. En el caso de que los investigadores estén usando procedimientos con los que no están familiarizados, deberían consultar a colegas más experimentados, así como la literatura especializada.

### *Recomendaciones específicas*

#### 1. *Evaluación de la severidad*

- 1.1. Antes de evaluar la severidad en el bienestar de un animal de cualquier procedimiento regulado, es esencial que el observador se familiarice con el comportamiento normalmente aceptado, anatomía, fisiología y requerimientos ambientales de las especies empleadas. Por ejemplo, tasa de crecimiento, dieta y estatus microbiano.
- 1.2. Debería prestarse especial atención a aquellos sistemas corporales que tengan más probabilidades de verse afectados por el procedimiento. En el caso de tumores sólidos, estos incluyen ulceración, distensión de tejidos cobertores y caquexia. En el caso de tumores ascíticos, son importantes la distensión abdominal, anemia y caquexia. Las complicaciones linfáticas derivadas del linfoma y las perturbaciones neurológicas de los tumores cerebrales son ejemplos de complicaciones especiales que pueden surgir en situaciones específicas.
- 1.3. Algunas desviaciones con respecto al bienestar normal pueden ser difíciles de observar, por ejemplo, la aparición de anemia o el desarrollo de metástasis, y puede que se requieran exámenes especiales para detectarlas.
- 1.4. Deberían incluirse siempre animales de control adecuados, con el fin de distinguir los efectos individuales del tumor y de cualquier tratamiento.

#### 2. *Biología de los tumores*

- 2.1. Debería considerarse apropiadamente la biología conocida del tumor. En el caso de tumores espontáneos y trasplantados, algunas características importantes serán la tasa de crecimiento, invasión, distensión, ulceración, metástasis, localización, y producción de factores caquécicos.
- 2.2. En el caso de tumores provocados por

carcinógenos, virus o manipulación genética, algunos factores tales como los métodos de inducción pueden afectar a la naturaleza y localización de los tumores resultantes.

- 2.3. La contaminación de líneas celulares con virus y otros microorganismos pueden comprometer los resultados del experimento, así como causar un brote de enfermedad entre los animales de laboratorio. Se recomienda especialmente analizar las líneas celulares frente a virus que afectan a roedores. Por ejemplo, el virus Sendai se utiliza a menudo para causar la fusión celular *in vitro* y es patógeno para ratones y ratas. Existe un riesgo potencial para los investigadores con animales inmunocomprometidos que reciban xenotransplantes de tumores humanos que hayan podido ser contaminados con patógenos humanos. En tal caso, debería considerarse el uso de espacios especiales tanto para la preparación de tejidos como para alojar al animal (por ejemplo pantallas flexibles de aislamiento) (véase UKCCCR Guidelines for the Xenografting of Human Tumours, 1980).

#### 3. *Punto final humanitario*

- 3.1. Debería dedicarse un cuidado especial a la elección racional de un punto final del crecimiento de tumores. Esta elección debería tener en cuenta indicaciones predecibles de dolor, sufrimiento, o considerable desviación respecto a comportamientos normales. A menos que se especifique lo contrario en la Autorización de Proyecto, debería sacrificarse a los animales antes de que:
  - (i) su muerte sea predecible;
  - (ii) se encuentren en una mala condición;
  - (iii) la masa tumoral llegue a ser desproporcionada, probablemente causando úlceras o limitando de forma inaceptable el comportamiento normal.
- 3.2. En el caso de tumores sólidos locales, la información requerida en respuesta a la terapia puede obtenerse mediante reaparición retardada del tumor o ensayo clonogénico, en lugar de mediante el peso del tumor en un momento determinado. Este último método puede resultar problemático ya que la reducción óptima de un tumor tratado puede que no se logre antes de que los tumores de control alcancen un tamaño demasiado grande y/o que cause sufrimiento al animal. En el caso de que deba realizarse un ensayo de este tipo, la carga del tumor debería

- demasiado grande y/o que cause sufrimiento al animal. En el caso de que deba realizarse un ensayo de este tipo, la carga del tumor debería regularse como se indica en la sección 3.1.
- 3.3. La localización elegida para los tumores sólidos también requiere un cuidado considerable, y debería prestarse especial atención a evitar emplazamientos que afecten a los sentidos o donde la capacidad de crecimiento de un tumor esté limitada. Se considera que el crecimiento subcutáneo o intradérmico en lomo o el costado causan menos sufrimiento, mientras que los tumores implantados en las almohadillas de las patas, la cola o los ojos requerirán una justificación mucho mayor. Por lo general la distensión muscular es dolorosa, y esto debería considerarse respecto a los implantes intramusculares. Debe prestarse especial atención si se usan múltiples localizaciones.
  - 3.4. El límite de supervivencia como punto final debería evitarse siempre que sea posible, y su uso requerirá una justificación especial. En el caso de que este punto final tenga que usarse con animales con ascitis o tumores diseminados, debería tenerse especial cuidado. Por lo general es inaceptable esperar a que la muerte sea predecible. Debería sacrificarse a los animales moribundos, a menos que se especifique lo contrario en la Autorización de Proyecto.
  - 3.5. Pueden darse dificultades en el caso de que los efectos de agentes anticancerígenos se estén evaluando en el crecimiento tumoral. La alta toxicidad de estos elementos podría combinarse con los efectos adversos del tumor, pero esto podría justificarse por la expectativa de remisión terapéutica (como es el caso en humanos). Por lo tanto, el resultado de dichos experimentos puede ser incierto, y el sacrificio injustificado podría frustrar los objetivos del estudio. Sin embargo, en los casos en los que el resultado sea razonablemente predecible, los animales que estén moribundos deberían ser sacrificados.
  - 3.6. No es posible dar unas pautas cuantitativas respecto al límite máximo aceptable de carga tumoral, ya que los efectos adversos en el animal dependerán de la biología del tumor, su localización y modo de crecimiento, y la naturaleza de los tratamientos asociados. Sin embargo, la carga tumoral no debería normalmente exceder el 10% del peso normal del animal. Es necesario subrayar, no obstante, que una carga tumoral considerablemente más pequeña puede generar problemas.
  - 3.7. En el caso de los tumores ascíticos, incluidos los hibridomas, deberían tomarse precauciones para asegurar que el volumen de fluido ascítico no alcance niveles excesivos, causando distensión del intestino grueso, y que los depósitos sólidos y la caquexia no lleguen a ser clínicamente significativos. Los volúmenes ascíticos no deberían exceder normalmente el 20% del peso normal en ratones y ratas. Las hembras reproductoras retiradas presentan ventajas para la producción monoclonal de anticuerpos, ya que su musculatura abdominal tolera sin sufrimiento un volumen ascítico mayor. Los tumores ascíticos normalmente deberían drenarse una única vez. Esto minimiza el desarrollo de depósitos tumorales sólidos, el sangrado en la cavidad peritoneal y la caquexia, y también reduce el riesgo de infección. Siempre debería utilizarse anestesia general.
  - 3.8. En experimentos de terapia tumoral con roedores adultos, se recomienda que la pérdida de peso no exceda normalmente el 20% del peso del animal al inicio del experimento. En el caso de animales más jóvenes, la incapacidad de mantener el mismo aumento de peso que en los animales de control sin tratar, debería considerarse como un indicador de toxicidad.
  - 3.9. Deberían tomarse precauciones para que las condiciones generales de alojamiento se adecuen a la condición conocida o prevista del animal que tenga un tumor, por ejemplo, una cama y estructura de la cubeta apropiadas, así como acceso a comida y agua.
  - 3.10. *Los criterios de punto final humanitarios y otros procedimientos deberían refinarse con la experiencia.*
4. *Examen de animales*
    - 4.1. La frecuencia con la que los animales deben ser examinados en busca de signos de dolor o sufrimiento, y el alcance de cada examen deberán determinarse en base a:
      - (i) la biología conocida del tumor y/o los efectos del agente inductor;
      - (ii) los efectos de cualquier técnica asociada;
      - (iii) el estado clínico cambiante del animal.
    - 4.2. Los tumores de rápido crecimiento o los tumores invasivos requerirán atención más frecuente, y un mayor cuidado a medida que la carga tumoral aumente.

- 4.3. Como mínimo, cada uno de los animales con tumores debería ser examinado una vez al día, y deberían llevarse a cabo exámenes adicionales más exhaustivos según sea necesario. La frecuencia de estos últimos debería aumentarse durante periodos críticos, cuando se prevea la posibilidad de sufrimiento animal. El diseño del experimento debería asegurar que estos momentos no tienen lugar cuando el personal esté ausente. Debería prestarse especial atención a animales en un peor estado de salud.
- 4.4. Las técnicas de evaluación apropiadas incluirán: evaluación de la condición clínica general, incluyendo apariencia, postura, temperatura corporal, comportamiento y respuestas fisiológicas; evaluación del consumo de comida y agua; peso para determinar cambios (los cambios tanto negativos como positivos comparados con los controles pueden asociarse con un aumento de la carga tumoral); calibración del volumen o masa del tumor; e inspección y palpación para localizar los emplazamientos del crecimiento tumoral, así como para evaluar la distensión, ulceración y movilidad comprometida.
- 4.5. Otras técnicas de examen especiales serán más apropiadas para emplazamientos específicos, por ejemplo la frecuencia respiratoria para depósitos pulmonares, perturbaciones neurológicas para neoplasias cerebrales, y recuento de células sanguíneas para leucemia. En algunos casos la laparotomía o la endoscopia pueden ser apropiadas. La estimación de marcadores tumorales en circulación también puede resultar útil. La autopsia de animales puede exponer efectos adversos no detectados por exámenes externos.

#### 5. Documentación y publicación

- 5.1. Se insta a los investigadores que, para cada modelo tumoral que usen en su laboratorio, documenten el comportamiento previsto tanto del tumor como del animal en diversas condiciones experimentales, incluyendo la terapia. También deberían documentar los criterios de punto final humanitario para limitar la severidad en lo que se refiere a toxicidad aguda y retardada, y carga tumoral máxima, e indicar cualquier problema concreto que pueda encontrarse al usar cada uno de los modelos. Debería describirse la respuesta apropiada a estos problemas, y definirse con claridad la cadena de comunicación y responsabilidad. Debería considerarse la inclusión

de un sistema numérico de puntos para facilitar la toma de decisiones; por ejemplo, cuándo avisar a personal más experimentado o cuándo sacrificar a un animal. Las pautas para modelos tumorales específicos deberían ser acordadas por todo el personal de investigación y cría que trabajen con ese modelo y estar a su disposición. Debería tenerse especial cuidado para asegurarse de que todo el personal auxiliar y ocasional está familiarizado con los procedimientos. También se anima a los investigadores a compartir esta información con otros grupos que usen el mismo sistema, por ejemplo al proporcionar una línea tumoral a otro laboratorio.

- 5.2. Se recomienda a los investigadores que publiquen las mejoras respecto a los criterios de punto final humanitario en las publicaciones apropiadas, para asegurar la amplia distribución de la información.
- 5.3. También se recomienda la incorporación de una declaración del bienestar animal en protocolos experimentales, e informar del cumplimiento de los mismos y de otras pautas relevantes (incluyendo directrices locales) a la hora de publicar resultados. Algunas revistas especializadas así lo requieren (por ejemplo *British Journal of Radiology*, *CancerResearch*, y *Journal of the National Cancer Institute*).

#### Resumen y conclusiones

Los investigadores tienen la responsabilidad legal y ética de considerar el bienestar de los animales para experimentación bajo su cuidado. Deben decidir si el uso de animales es necesario para responder a una determinada pregunta, y si es así, minimizar el dolor y sufrimiento implicados. Los estudios de neoplasia experimental son particularmente problemáticos. Los trabajadores deberían tener un conocimiento apropiado de los animales y de los modelos tumorales que se estén empleando. En el caso de que se empleen procedimientos con los que no estén familiarizados, debería obtenerse información y pautas de colegas más experimentados y de la literatura científica. Los trabajadores deberían recibir formación y supervisión adecuadas. Deberían llevarse a cabo experimentos piloto con un pequeño número de animales, y los números deberían estar siempre limitados al mínimo dependiendo del diseño y objetivos del experimento. Los criterios de punto final humanitarios tumoral deberían elegirse y refinarse de forma que minimicen los efectos adversos en los animales. Se desaconsejan los límites de supervivencia como puntos finales. En la

mayoría de los casos debería sacrificarse a los animales antes de que estén moribundos. Se desaconseja el drenaje reiterado de los tumores ascíticos, y debería usarse un anestésico general. Todo el personal debería comprender sus responsabilidades y se debería establecer una clara cadena de comunicación con el objeto de poder responder rápidamente a cualquier problema que pueda surgir. Finalmente, se anima a los investigadores a que refinen los puntos finales en la neoplasia experimental, y a que publiquen dichas

mejoras, a incorporar declaraciones de bienestar animal en protocolos experimentales, y a informar del cumplimiento de las directrices relevantes en sus publicaciones.

#### Nota

Toda correspondencia y recomendaciones para futuras ediciones deberán dirigirse a: The Secretariat, UKCCCR, The Medical Research Council, 20 Park Crescent, London W1N 4AL, UK.

#### Referencias

- Animals (Scientific Procedures) Act (1986). HM Stationery Office
- British Council Guidelines on the Use of Living Animals in Scientific Investigations (1984)
- Fowler ME (1978) *Restraint and Handling of Wild and Domestic Animals*. Ames: Iowa State University Press
- Gay WI, ed. (1965). *Methods of Animal Experimentation*, vol. I. New York: Academic Press
- Institute of Animal Technology (en proceso de edición). *The Principles of Animal Techniques*, Volume I
- Royal Society/Universities Federation for Animal Welfare (UFAW) (1987). Guidelines on the Care of Laboratory Animals and their Use for Scientific Purposes Part 1- Housing and Care, Royal Society and UFAW
- Tuffery AA, ed. (1987). *Laboratory Animals: An Introduction for New Experimenters*. Wiley:

Chichester

UKCCCR Guidelines for the Xenografting of Human Tumours (1980)

#### Referencias adicionales para modelos tumorales animales y puntos de terminación

- Denekamp J, ed (1980) Quantitation of tumour response: a critical appraisal. *British Journal of Cancer* 41, Suppl. IV, 1-331
- Kallman RF, ed. (1987) *Rodent Tumor Models*. New York: Pergamon Press
- Kallman RF, Denekamp, J, Hill RP & Kummermehr J (1985) The use of rodent tumors in experimental cancer therapy. *Cancer Research* 45, 6541-6545
- Martin DS, Balis ME, Fisher B, Frei E, Freireich EJ, Heppner GH, Holland JF, Houghton JA, Houghton PJ, Johnson RK, Mittleman A, Rustum Y, Sawyer RC, Schmid FA, Stolfi RL & Young CW (1986) Role of murine tumour models in cancer treatment research. *Cancer Research* 46, 2189-2192

#### APÉNDICE

Los siguientes ejemplos de sistemas tumorales pretenden ser ilustrativos.

1. Sarcoma RIF-1 en ratones. Es un sarcoma trasplantable en ratones C3H/Km de uso habitual en estudios de radiación y quimioterapia (Twentyman PR, *et al. Journal of the National Cancer Institute* 64, 595, 1980). Puede mantenerse en cultivo celular y desarrollado *in vivo* como tumor sólido mediante implantación intradérmica en la piel del costado o intramuscular en las patas traseras. Los criterios de punto final empleados para determinar los

efectos terapéuticos en el tumor sólido son supervivencia clonogénica, retraso del crecimiento y cura del tumor. Es práctica común terminar los experimentos de retraso del crecimiento con tumores en las patas cuando el diámetro de la extremidad alcanza aproximadamente 16 mm. En este punto, la masa tumoral es de aproximadamente 3g o 10% del peso corporal y los animales se encuentran, por lo demás, en una condición normal. El retraso en el crecimiento se determina a partir del tiempo que se tarda en alcanzar cuatro veces el tamaño de tratamiento. Las metástasis se producen raramente, y más tarde.

2. Tumor mamario inducido por DMBA en ratas

Tanto el número de tumores que se desarrollan como su índice de crecimiento relativo son heterogéneos, de tal forma que diferentes animales podrán presentar cargas tumorales muy diversas. Es esencial realizar controles diarios y establecerse un juicio general basándose en la masa tumoral total, el tamaño y condición de los tumores de mayor tamaño, y la salud general del animal. Mientras que los animales pueden tolerar una masa tumoral total de >10% del peso corporal en el caso de que haya muchos tumores pequeños, un único tumor de gran tamaño puede causar un rápido deterioro que requiera sacrificar al animal por motivos humanitarios.

3. Adenocarcinoma MAC 16 de colon en ratones. Es un tumor trasplantable de ratones NMR1 que normalmente se desarrolla de forma subcutánea en el costado (Bibby MC, *et al. Journal of the National Cancer Institute* **78**, 539, 1987). Es de particular interés ya que causa caquexia progresiva y pérdida de peso, comenzando con un peso tumoral de aproximadamente 100 mg en un ratón de 30g y aumentando en los siguientes 7-14 días. Los ratones continúan comiendo de forma normal durante esos días. La principal dificultad de trabajar con el tumor MAC 16 es la heterogeneidad de la respuesta caquéxica entre animales con la misma carga tumoral. Por esto, se pesa a cada uno de los animales en el momento del trasplante y todos los días subsiguientes. Se sacrifica a los ratones cuando la pérdida de peso está entre el 20 y el 40% (máximo). Este cuidadoso proceso de seguimiento evita la muerte por caquexia.
4. Leucemia L1210 en ratones. Normalmente se desarrolla como un tumor ascítico y se usa para la evaluación de agentes anticancerígenos (Geran RI, *et al. Cancer Chemotherapy Reports* **3**, 1, 1972). Las dificultades que se asocian con este modelo también las presentan otros modelos tumorales ascíticos para los que en el pasado se ha utilizado normalmente el límite de supervivencia como punto final. Las células (rutinariamente  $10^5$ - $10^6$ ) se inyectan en la cavidad peritoneal de ratones C57BL x DBA/2 F<sub>1</sub> (BD2F<sub>1</sub>). Normalmente existe una relación directa entre el número de células L1210 viables inyectadas, o que permanecen tras el tratamiento con fármacos, y la consecuente supervivencia del animal. Se ha demostrado que la implantación de  $10^5$  células L1210, con un tiempo de duplicación de aproximadamente 12 horas en crecimiento exponencial, produce síntomas que amenazan la supervivencia al octavo día de su implantación. Estos síntomas se manifiestan en forma de una distensión abdominal marcada producida por líquido ascítico peritoneal, disnea, postura encorvada y pelaje de poca calidad, en especial erizamiento del pelaje, así como catatonía leve. A medida que los animales se aproximan a esta fase del crecimiento tumoral, es necesaria la inspección dos veces al día para evaluar la morbilidad. La sustancia terapéutica bajo investigación normalmente se administra 24 horas después de la implantación del tumor, y puede administrarse en ocasiones subsiguientes. Sin embargo, el protocolo puede modificarse para evitar un posible solapamiento de la toxicidad de la sustancia y los síntomas de morbilidad causados por el tumor.
5. Modelos de metástasis tumoral en roedores. La metástasis puede producirse 'artificialmente' mediante inyección intravenosa de células tumorales, o espontáneamente tras el crecimiento de un depósito sólido que puede extirparse quirúrgicamente cuando sea apropiado. Estos modelos incluyen el B16 y otros melanomas y los fibrosarcomas inducidos por UV en ratones (Kripke ML, *et al. Cancer Research* **38**, 2962, 1978). No siempre es necesario esperar a que los ratones desarrollen síntomas de morbilidad inminente, y la información requerida puede obtenerse tras el sacrificio humanitario en una etapa anterior (véase Kripke *et al.* citado anteriormente). Debería dedicarse especial atención a la detección de síntomas asociados a enfermedades clínicamente significativas en localizaciones particularmente susceptibles a la metástasis, por ejemplo disnea causada por depósitos pulmonares.
6. Tumores de colon inducidos químicamente en ratas. Los tumores en ciertos órganos internos son difíciles de detectar mediante examinación externa. Como ejemplo de uso de técnicas especiales de diagnóstico, los tumores de colon en ratas pueden identificarse mediante exploración endoscópica (Merzet *et al. Hepato-Gastroenterology* **28**, 53, 1981; Hermanek PJ & Giedl J *Pathology, Research and Practice* **178**, 548, 1984).



7. Neoplasia en animales transgénicos. Pueden encontrarse problemas cuando los oncogenes se insertan o activan, o cuando se introducen otras alteraciones genéticas en los animales transgénicos. Predecir las consecuencias de dichos cambios genéticos, que pueden producirse en otros órganos además de en el órgano de interés, puede ser particularmente difícil. Un ejemplo de este fenómeno tuvo lugar en ratones transgénicos que llevaban un gen híbrido que contenía el promotor

cristalino- $\alpha$ A murino unido a la secuencia codificante del oncogén SV40 T antígeno. No sólo se desarrollaron los tumores esperados en el cristalino, sino que también varios animales desarrollaron tumores no oculares en varias partes del cuerpo (Mahon KA *et al. Science* **235**, 1622, 1987). Por lo tanto deberá tenerse especial cuidado para identificar este tipo de secuelas y tomar las medidas apropiadas al respecto.