

REVISTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA LAS CIENCIAS DEL ANIMAL DE LABORATORIO

# ANIMALES DE LABORATORIO

Invierno 2018. Número 76



Actualidad e instalaciones  
de los servicios  
de transgénesis en ratón.

El ignorado (sub) mundo  
de las sub-cepas:  
¿estamos a la deriva?

La predicción con cultivos  
neuronales del riesgo  
de depresión o suicidio  
inducidos por medicamentos.



+++  
ENVIGO

At Envigo, the positives are  
in more than just our name

## Introducing SHrN<sup>®</sup>

The most immunodeficient hairless model available.

With a level of immunodeficiency that goes beyond other traditional hairless SCID mice and with fewer dendritic cells than all triple-deficient models, the SHrN brings a new option to oncology and immunology researchers. And, with no need for shaving, you'll save time and effort.

Download Advances in immunodeficient models white paper at [envigo.com/shrn-paper](http://envigo.com/shrn-paper)



[envigo.com](http://envigo.com)

## Grupo Editor



**REVISTA DE LA SOCIEDAD  
ESPAÑOLA PARA LAS  
CIENCIAS DEL ANIMAL  
DE LABORATORIO**

www.secal.es

### **DIRECTORA**

Lara Sedó  
direccion.revista@secal.es

### **SUBDIRECTOR**

Hernán Serna  
Hserna@binaex.com

### **EDITORES DE ESTILO E IMAGEN**

Olga Fernández  
omfr75@yahoo.es

### **PUBLICIDAD**

David Mayo  
publicidad.revista@secal.es

### **FOTO DE PORTADA**

Suministrada por Secal

### **DISEÑO Y MAQUETACIÓN**

CONEXION E.P.  
www.agenciaconexion.com.co

### **IMPRIME**

LPG  
lpgtextil@gmail.com

DEPÓSITO LEGAL  
M-1362-1999

## EDITORIAL

En el número pasado dimos la bienvenida a algunas de las nuevas secciones de la revista Animales de Laboratorio. En la nueva sección de Bienestar animal tratamos el tema del enriquecimiento ambiental en ratones de laboratorio, en Reproducción y genética abarcamos las herramientas CRISP/Cas, en Tinciones y tejidos presentamos una amplia gama de tinciones histológicas en experimentación animal y en *In Vitro* vimos modelos alternativos en investigación de enfermedades infecciosas.

En este número presentamos la sección de Controles sanitarios con un pequeño avance de lo que será. En esta sección trataremos temas como calidad de los programas microbiológicos de un animalario y técnicas de detección de agentes infecciosos entre otros.

A lo largo de los siguientes números nos introduciremos en las nuevas secciones de Anestesia y analgesia y CEEA-OH en las que trataremos los temas más actuales.

En el interior de este número encontraréis un magnífico póster de Cirugía en el ratón que podréis colgar en vuestros lugares de trabajo.

### **Dirección Revista SECAL**

Fe de errores: En el artículo "Guía práctica para la implementación de la Directiva 2010/63 aplicada a los animales genéticamente alterados" publicado en el número 74 de la revista, en la primera fila del último párrafo de la página 44 donde pone "si un animal genéticamente alterado se sacrifica..." debería poner "si un animal genéticamente alterado con fenotipo dañino se sacrifica...", y en la primera fila del recuadro de la derecha de la Tabla 5 de la página 45 donde pone "Creación" debería poner "Mantenimiento".

# EDITORIAL

## JUNTA DE GOBIERNO

### **PRESIDENCIA**

Teresa Rodrigo Calduch (2015-2019)

### **SECRETARÍA**

Clara Muñoz Mediavilla (2015-2019)

### **TESORERÍA**

David Muñoz Valverde (2015-2019)

### **VOCALÍAS**

Helena Paradell Trius (2015-2019)  
Hernán Serna Duque (2015-2019)  
Sergi Vila Bellmunt (2015-2019)  
José Luis Martín Barrasa (2015-2019)

### **VICEPRESIDENCIA**

Isabel Blanco Gutiérrez (2017-2021)

### **VICESECRETARÍA**

Julia María Samos Juárez (2017-2021)

### **VICETESORERÍA**

Viviana Bisbal Velasco (2017-2021)

Elena Hevia Hernández (2017-2021)  
John Sparrowe-Gil Del Real (2017-2021)  
David Mayo Lopez (2017-2021)  
María Jesús Molina Cimadevila (2017-2021)

# SOCIOS BENEFACTORES



- ▶ CHARLES RIVER LABORATORIES ESPAÑA, S.A.
- ▶ PANLAB - HARVARD APPARATUS, S.L.U.
- ▶ ENVIGO RMS SPAIN, S.L.
- ▶ GRANJAS SAN BERNARDO
- ▶ JANVIER LABS
- ▶ BIOSIS
- ▶ STERIS IBERIA, S.A.
- ▶ DINOX SL
- ▶ ANADE
- ▶ VESTILAB C.R.C., S.L.U.
- ▶ NORAY BIOINFORMATICS, S.L.U.
- ▶ ANTONIO MATACHANA S.A.
- ▶ STERILTECH, S.L.
- ▶ DYNAMIMED, S.L.
- ▶ RETTENMAIER IBERICA, S.L. Y CIA SCOM
- ▶ VIVOTECNIA RESEARCH
- ▶ ZOONLAB GmbH
- ▶ ANIMALARIA FORMACIÓN y GESTIÓN, S.L.
- ▶ SODISPAN RESEARCH, S.L.
- ▶ COL.OFI. DE VETERINARIOS DE CADIZ
- ▶ TEMINOX C.B.
- ▶ CENTRO DE ESTUDIOS BIOSANITARIOS, S.L.
- ▶ FLOVIGAS, S.A.
- ▶ IDEXX BIORESEARCH





Directora  
**LARA SEDÓ**  
larasedo@ub.edu



Subdirector  
**HERNÁN SERNA**  
Hserna@binaex.com



Editor de estilo e imagen  
**OLGA FERNÁNDEZ**  
omfr75@yahoo.es



Publicidad  
**DAVID MAYO**  
publicidad.revista@scal.es

## RESPONSABLES DE SECCIÓN



Noticias Secal / Actualidad  
**CRISTINA GERBOLÉS FREIXAS**  
kgerboles@gmail.com



Técnicas  
**MARÍA GRANADA PICAZO**  
mpicazo@sescam.jccm.es



Ética y legislación  
Seguridad en 5 minutos  
**JESÚS MARTÍNEZ PALACIO**  
jesus.martinez@ciemat.es



¿Y tú qué opinas?  
**JOSÉ LUIS MARTÍN BARRASA**  
jimbarrasa@gmail.com



Libros y páginas web  
**SERGI VILA BELLMUNT**  
sergivilab@gmail.com



Factor Humano  
**JAVIER FIDALGO FERNÁNDEZ**  
fidalgo@ocelata.com



Al cuidado  
**DANIEL DEL OLMO**  
olmo@vivotecnia-ms.com



Panorama  
**LUIS MUÑOZ DE LA PASCUA**  
imp@usal.es



Control sanitario  
**SANDRA BARBOSA**  
sandra.barbosa@uab.cat



Reproducción y genética  
**GONZALO MORENO**  
g.moreno@umh.es



Anestesia y analgesia  
**JAVIER BENITO**  
benedictusvip@hotmial.com



In vitro  
**GUILLERMO REPETTO**  
grepkuh@upo.es



Bienestar animal  
**SÍLVIA CUFÍ**  
scufigonzalez@gmail.com



CEEA-OH  
**ALBERTO PASTOR**  
albertopastor@umh.es



Tinciones y tejidos  
**ANA NIETO**  
anieto@ugr.es

## Han colaborado en este número:

**Teresa Rodrigo**, directora Unitat d'Experimentació Animal de Farmàcia i Unitat d'Experimentació Animal de Psicologia / **Helena Paradell Trius**, Zoetis Manufacturing & Research Spain, S.L. / **Rubén Mota**, veterinario responsable del CNIC / **Jordi Cantó Martorell**, Director del Servei d'Estabulari - Serveis Integrats d'Animals de Laboratori (SIAL) / **Nerea Marín Izquierdo**, Centro de Investigación Príncipe Felipe Valencia / **Marta Casado Pinna**, Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC) / **Fernando Benavides**, Laboratory Animal Genetic Services, Department of Epigenetics and Molecular Carcinogenesis Science Park, The University of Texas - M.D. Anderson Cancer Center / **Consuelo Álvarez Herrera, Ana del Peso y Sara Maisanaba**, Área de Toxicología, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla / **Edilia Inés Almeida Cordón**, CIEMAT - Servicio de Animalario / **María Herrero, Lucía Méndez**, Servicio de Transgénesis, plataforma Nucleus. Universidad de Salamanca / **Ignacio García-Tuñón, Manuel Sánchez**, Instituto Biosanitario de Salamanca (IBSAL).



# Un modelo al lado de los humanos

**EL AJOLOTE MEJICANO (*AMBYSTOMA MEXICANUM*) PRESENTA UNA EXTRAORDINARIA CAPACIDAD PARA REGENERAR EXTREMIDADES AMPUTADAS, OTROS ÓRGANOS Y TEJIDOS DEL ORGANISMO**

La reparación de las lesiones cerebrales, medulares o cardíacas son algunas de las potenciales aplicaciones a la medicina humana que guardan los fascinantes procesos biológicos del ajolote mejicano.

Recientemente, han descubierto uno de los secretos de este anfibio. El ajolote tiene el genoma más grande que se ha secuenciado hasta ahora, 32.000 millones de pares de bases de ADN, 10 veces mayor que el genoma humano. Este hallazgo será un poderoso recurso para estudiar la base molecular de la regeneración de extremidades, órganos y tejidos. Una puerta hacia la esperanza de muchos pacientes.

## EDITORIAL

### 9 NOTICIAS

- 30 años de formación en Ciencia del Animal de Laboratorio en la Universitat Autònoma de Barcelona.
- Nuevas traducciones al español de *Laboratory Animals*.

### 16 ACTUALIDAD

- Terapia génica contra los déficits cognitivos y de memoria asociados al envejecimiento.
- Un trastorno en las hormonas tiroideas puede derivar en problemas emocionales.
- La proteína Galectina-3, clave en la prevención del aneurisma de aorta.

### 20 BIENESTAR ANIMAL

- Búsqueda de criterios de bienestar animal: un objetivo, dos actores.

### 26 REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

- El ignorado (sub) mundo de las sub-cepas: ¿estamos a la deriva?

### 35 INVITRO

- La predicción con cultivos neuronales del riesgo de depresión o suicidio inducidos por medicamentos.

## TÉCNICAS (POSTER CENTRAL)

- Cirugía en el ratón.

### 39 CONTROL SANITARIO

- Avance.

### 40 ÉTICA Y LEGISLACIÓN

- La ética del uso de animales de laboratorio para desarrollar medicamentos para enfermedades asociadas al estilo de vida.

### 42 SEGURIDAD EN 5 MINUTOS

- Ergonomía del día a día. Cómo elegir correctamente una silla de trabajo.

### 44 ALCUIDADO

- Amigos animales.

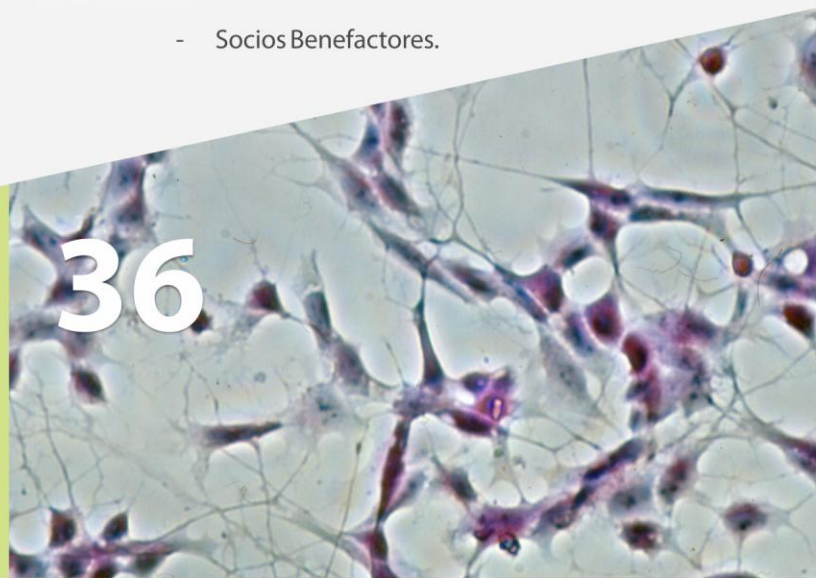
### 48 PANORAMA

- Actualidad e instalaciones de los servicios de transgénesis en ratón.

### 54 ENTREVISTA

- Socios Benefactores.

# 36



Cursos reconocidos por la autoridad competente para obtener las Funciones A, B, C, D y E y válidos en toda España. Matrícula reducida para las personas procedentes de SECAL

*Una formación de calidad para una investigación de*  
**calidad**

*Su bienestar es nuestro*  
**bienestar**

 sociedad española para las ciencias del animal de laboratorio

*Con la colaboración de SECAL*



**Animalaria**  
Formación y Gestión S.L.

[www.animalaria.org](http://www.animalaria.org) Tel. +34 699921930  
[animalaria@animalaria.org](mailto:animalaria@animalaria.org)

## 30 años de formación en Ciencia del Animal de Laboratorio en la Universitat Autònoma de Barcelona

**Jordi Cantó Martorell**

En octubre de 1987 se impartió en la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) la primera edición del "Curso de Capacitación para el Uso del Animal de Laboratorio".

Para celebrar estos 30 años se organizó un acto el pasado 30 de noviembre en la Escola de Postgrau de la UAB que reunió a unas 60 personas.

El acto de inauguración de la Jornada fue presidido por la Dra. Margarita Arboix, rectora de la UAB, a la que acompañaron la Dra. María José Feijóo, directora de l'Escola de Postgrau de la UAB, y el director general de Polítiques Ambientals i Medi Natural, del Departament de Territori i Sostenibilitat de la Generalitat de Catalunya. Los tres integrantes de la mesa coincidieron en reconocer el trabajo realizado durante estos 30 años, animando a seguir progresando en esta importante labor formativa.

En un emotivo recuerdo de los primeros cursos hablaron el Dr. Eduard Goñalons, como director de las cinco primeras ediciones, el Dr. Ignasi Tintoré y el Dr. Joan Roca, como profesores, y el Dr. Miquel Borràs, en representación del alumnado.



Imagen suministrada por la autoría



Imagen suministrada por la autoría

A continuación, intervino la Dra. Patri Vergara revisando el presente y el futuro de la formación en "Ciencia del Animal de Laboratorio". La Dra. Patri Vergara es directora del "Curso para Personal Investigador" (46 ediciones desde el 1997) y del "Máster en Ciencia y Bienestar del Animal de Laboratorio" (6 ediciones trianuales desde el 2000).



Imagen suministrada por la autoría

El Dr. Ignasi Rodríguez Ferran, jefe de la Secció de Protecció dels Animals de Companyia y presidente de la Comissió d'Experimentació Animal de la Generalitat de Catalunya, presentó el tema "Formación del Personal. Reconocimiento de los Programas de Formación por Funciones".



Imagen suministrada por la autoría

La Dra. Neus Prats, directora de la Plataforma de Histopatología del Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB-B), realizó una revisión de la “Evolución de los Estudios de Histopatología y Misión del Patólogo en la Investigación Biomédica” en estos 30 años.



Imagen suministrada por la autoría

Por la tarde, después de un refrigerio ofrecido por las empresas patrocinadoras del acto (Binaex, Envigo, Matachana y Rettenmaier Ibérica), y aprovechando la asistencia al acto tanto del responsable de la Autoridad Competente como de las personas responsables de los cursos de formación que una docena de centros públicos y privados imparten actualmente en Catalunya, se llevó a cabo una interesante sesión de trabajo dirigida a resolver dudas y estandarizar criterios en el proceso de adecuación de estas actividades formativas a lo establecido por la Orden ECC/566/2015.

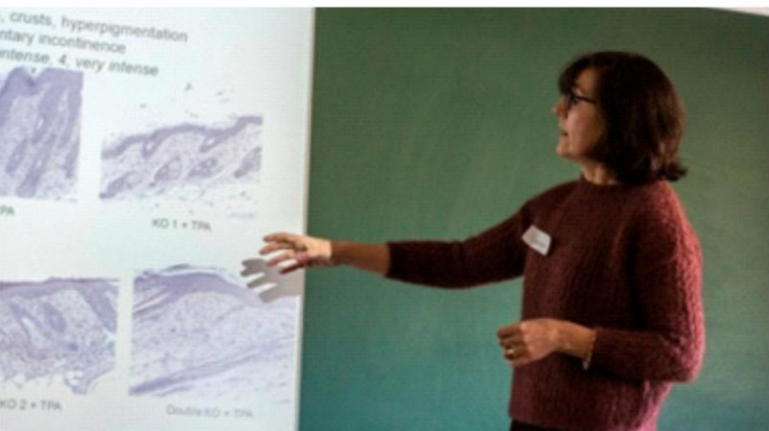


Imagen suministrada por la autoría

La clausura de la Jornada contó con la participación de la Dra. Teresa Rodrigo, presidenta de SECAL, y de la Dra. María Teresa Martín, decana de la Facultat de Veterinària de la UAB. La presidenta de la SECAL reconoció y agradeció el esfuerzo en la realización de estos cursos y recordó algunos anteriores organizados por el CIPCAL (Comité Interasociativo Promotor de las Ciencias del Animal de Laboratorio. Barcelona, 1980 y 1982), que podrían considerarse como embriones de la futura SECAL. La Dra. Martín recordó los muchos años en los que ha estado trabajando directamente en la coordinación de estos cursos, así como la implicación de la Facultat de Veterinària como anfitriona de los mismos, y de la que actualmente es decana.



Granja  
San  
Bernardo

*Minimal Disease  
Level Rabbits*

New Zealand White Rabbit.  
Total absence of all important rabbit disease germens  
with specific sanitary garantees.

Ask our most recent garantee table at  
[www.granjasanbernardo.com](http://www.granjasanbernardo.com)

## Nuevas traducciones al español de *Laboratory Animals*

Gracias al patrocinio de la revista *Laboratory Animals*, ya tenemos nuevas traducciones al español de artículos de esta revista a vuestra disposición. SECAL ha elegido en esta ocasión cuatro trabajos seleccionados de entre los más citados y leídos. Seguimos trabajando en nuevas traducciones con el deseo de que sean de utilidad y provecho para todos.

Podéis acceder a éstas y las anteriores traducciones, de manera libre y abierta en la Web de SECAL, concretamente en su apartado Recursos – Publicaciones – Artículos de *Laboratory Animals* en Español: <https://secal.es/publicaciones/articulos-de-laboratory-animals-en-espanol/>

## Métodos de identificación en ratones C57BL/6 recién nacidos: Evaluación de su desarrollo y comportamiento

*Laboratory Animals*. 2010,44:88–103. DOI: 10.1258/la.2009.009044

Castelhano-Carlos M.J.<sup>1</sup>, Sousa N.<sup>1</sup>, Ohl F.<sup>2</sup>, and Baumans V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigação em Ciências da Vida e Saúde (ICVS), Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad de Minho, Portugal

<sup>2</sup>División de Ciencia del Animal de Laboratorio, Departamento de Animales, Ciencia y Sociedad, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Utrecht, Países Bajos

### Resumen

El uso, en muchos campos de la investigación biomédica, de roedores alojados en grupo plantea la necesidad de identificar a los individuos de una cubeta. Muy pocos estudios se han diseñado con el objetivo de evaluar los posibles efectos negativos, que pueden tener los métodos de identificación de los ratones recién nacidos, sobre el desarrollo y bienestar. En el presente estudio, se aplican tres métodos de identificación en ratones C57BL/6J de 5 días postparto: amputación de falanges, tatuaje de las falanges e implante subcutáneo de un pequeño transmisor.

Todos los métodos de identificación empleados son efectivos a largo plazo para marcar individualmente a los animales. Los ratones recién nacidos muestran una menor reacción a la amputación de falanges, seguida del tatuaje de éstas; mientras que la implantación del transmisor demuestra ser la técnica de identificación individual más dolorosa en ratones recién nacidos. Cabe remarcar, que el tejido amputado de las falanges es suficiente para el genotipado.

Por lo general, no se aprecian diferencias consistentes en el desarrollo de reflejos somáticos o neurológicos durante el periodo postnatal como resultado de los procedimientos de identificación individual empleados en los recién nacidos. Además, ninguno de los métodos interfiere significativamente con el comportamiento normal general de los animales adultos (p. ej.: la capacidad de moverse, sujetarse, trepar...) ni con las funciones sensoriales evaluadas con una serie de test SHIRPA simplificados, así como con el test *Rotarod* y de laberinto elevado en cruz (*Elevated Plus Maze*). El peso post mortem del timo y las glándulas suprarrenales no indica estrés crónico como consecuencia del método de investigación.

La conclusión es que la amputación de las falanges puede ser incluso recomendable en ratones recién nacidos de muy corta edad, cuando es necesario el genotipado. El tatuaje de las falanges también es un buen método de identificación para ratones recién nacidos y la implantación de transmisores debería usarse solamente en recién nacidos de mayor edad o durante el destete.

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

**Laboratory Animals. 1988,22:195-201**

Pautas elaboradas por una comisión ad hoc del United Kingdom Co-ordinating Committee on Cancer Research (UKCCCR) 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 CRC Gray Laboratory, Northwood), Dr. A.M. Rohas, (CRC Gray Laboratory, Northwood), Prof. N.A. Mitchison (University College, Londres), Dr. C.G. Pierrepoint (Tenovus Institute, Cardiff), Don R. Raymond (ICRF, Londres), Dr. C. Rowlatt (ICRF, Londres), Dr. T.C. Stephens (ICI Pharmaceuticals, Alderley Park, Macclesfield), and Mr. J. Wallace (Institute of Cancer Research, Londres). Observador: Dr. D.W. Straughan (Home Office, United Kingdom)

### Resumen

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 esto, el Comité Coordinador del Reino Unido en la Investigación contra el Cáncer (*United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research, UKCCCR*), en representación de las

principales organizaciones benéficas contra el cáncer, y el Comité de Investigación contra el Cáncer (*MRC* de sus siglas en inglés) han elaborado las siguientes pautas para los investigadores que usen animales para neoplasia experimental.

Se ha dado particular énfasis a la predicción y el reconocimiento de los efectos adversos y a la implementación de criterios de punto final compasivos. La mayor parte de investigaciones en este campo se llevan a cabo con animales de laboratorio de pequeño tamaño, en especial roedores. Como consecuencia, han tomado principalmente como referente las experiencias con estas especies; no obstante, los principios generales pueden aplicarse a cualquier especie animal.

## Gusanos intestinales en roedores: Revisión

**Laboratory Animals. 1976,10:1-13**

**Taffs L.F.**

*National Institute for Biological Standards and Control, Holly Hill, Londres*

### Resumen

El artículo discute y analiza los oxiuros más comunes que afectan a los roedores de laboratorio: *Syphacia spp.*, *Aspicularis tetraptera* y *Passalurus ambiguus*.

Se examinan su ciclo biológico, patogenicidad e inmunidad, mencionando la influencia que tienen en la infestación, edad, sexo, cepa y estatus del huésped. Se enfatiza la importancia de utilizar animales libres de parásitos en la experimentación y se proporcionan pautas para el diagnóstico y control.

## Refinamiento: promover las tres R en la práctica

**Laboratory Animals. 2008,42:284–293**

**Lloyd M.H.<sup>1</sup>, Foden B.W.<sup>2</sup>, and Wolfensohn S.E.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Science and Research Group, Home Office, Swindon, UK

<sup>2</sup>Veterinary Affairs, AstraZeneca R&D Charnwood, Loughborough, UK

<sup>3</sup>Oxford University Veterinary Services, Oxford, UK

### Resumen

El refinamiento de los procedimientos científicos que se realizan en animales protegidos es un proceso continuado, que comienza con una evaluación crítica de las prácticas. El proceso continúa con la evaluación objetiva del impacto de los procedimientos, identificación de las áreas que requieren mejoras, selección e implementación de una estrategia de mejora y evaluación de los resultados para determinar si se ha logrado el efecto deseado, completando así el ciclo de refinamiento y obteniendo como resultado la perpetuación de buenas prácticas.

El refinamiento puede estar motivado por razones científicas (permitiendo la obtención de resultados de alta calidad) o por razones de bienestar animal, o a veces, ser una combinación de ambos. En cualquier caso, el refinamiento prácticamente siempre tiene resultados beneficiosos tanto para el bienestar como para la ciencia. El refinamiento puede introducirse en todos los aspectos del uso animal: la mejora de la metodología en técnicas invasivas, el alojamiento y la cría, e incluso en los análisis estadísticos; todos pueden contribuir al bienestar animal y a la calidad científica. Si no se busca el refinamiento de forma activa, algunas técnicas obsoletas e innecesariamente invasivas podrían no sustituirse por métodos mejores a medida que éstos pasen a estar disponibles, y de esta manera la información obsoleta pasará a la siguiente generación, causando la perpetuación de métodos anticuados.

Esto conduce a una espiral de ignorancia que tiene como resultado final malas prácticas, escaso bienestar animal y mediocres resultados científicos. El refinamiento es un requerimiento legal y ético, y aun así no siempre se implementa. Existen numerosos obstáculos para la implementación, que pueden ser reales o percibidos. En cualquier caso, para avanzar con el refinamiento, es importante organizar la aplicación del refinamiento, validar la ciencia que lo sustenta, asegurar que haya suficiente formación y práctica de las nuevas técnicas, mejorar la comunicación entre usuarios y asegurarse de que se evalúa si los métodos de refinamiento son adecuados. Por lo general, el refinamiento requiere un proceso continuado y coordinado de evaluación crítica de las prácticas y un escrutinio activo de las fuentes para posibles mejoras. En el ajetreado campo de la investigación biomédica, este proceso necesita asistencia. Con el objeto de desarrollar estos temas, se organizó un taller en el Congreso Invernal de LASA 2006 en Reino Unido (*LASA Winter Meeting*), para contribuir a identificar obstáculos potenciales para el refinamiento, y explorar y desarrollar estrategias para superar estos obstáculos en áreas clave. Se identifica una serie de estrategias apropiadas para diferentes circunstancias que permitirían la implementación de mejoras.

# ANÁLISIS DE AGUAS

Pídelo, que nosotros  
nos encargamos de todo.



Realiza la solicitud  
por teléfono, email o  
en nuestra web.



En 24h recibirás un kit  
con instrucciones con el  
que enviarnos tus  
muestras sin coste.



Las recogemos,  
las analizamos y  
tendrás los resultados  
en tu correo.

**fácil, rápido, fiable**

PRIMER ANÁLISIS GRATUITO\*

T 948 40 26 28 / [info@vuler.es](mailto:info@vuler.es) / [www.vuler.es](http://www.vuler.es)

\*Consulta condiciones en nuestra web.

# Terapia génica contra los déficits cognitivos y de memoria asociados al envejecimiento

Investigadores del Instituto de Neurociencias de la Universitat Autònoma de Barcelona (INC-UAB) y del Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR) han demostrado por primera vez que la regulación de un gen en el cerebro de ratones jóvenes, los protege de déficits de aprendizaje y de memoria asociados al envejecimiento.

« La terapia podría servir para tratar trastornos de demencia y neurodegenerativos, como el Alzheimer o la esclerosis múltiple. »

El estudio, publicado en *Molecular Psychiatry*, abre la puerta a avanzar en la investigación y desarrollo de un fármaco basado en la modulación del gen Klotho con capacidad neuroprotectora.

Una sola dosis de virus adenoasociados con este gen protege a ratones jóvenes del declive cognitivo cuando se hacen mayores. Los investigadores de la UAB habían demostrado previamente que aKlotho regula procesos asociados al envejecimiento, aumentando la esperanza de vida cuando está sobreexpresado y acelerando el desarrollo de los déficits de aprendizaje y de memoria cuando se inhibe. Ahora, muestran por primera vez, en ensayos *in vivo*, que una sola dosis de este gen inyectada en el sistema nervioso central protege del declive cognitivo asociado al envejecimiento de animales mayores cuando han sido tratados de jóvenes.

“La terapia se ha basado en el aumento de los niveles de esta proteína en el cerebro mediante un vector adenoasociado (AAV). Teniendo en cuenta que el estudio se ha realizado en animales que han envejecido de manera natural, pensamos que podría tener un potencial terapéutico para tratar trastornos neurodegenerativos y demencia como el Alzheimer o la esclerosis múltiple, entre otros”, indica el Dr. Miguel Chillón.

“En estudios realizados en investigación básica y ensayos clínicos han demostrado que los AAV son seguros y eficaces en la implementación de la terapia génica para el sistema nervioso central. De hecho, la Food and Drug Administration ha aprobado ya la primera terapia génica en Estados Unidos el pasado mes de agosto, y se espera que aprueben más próximamente”, apunta la Dra. Assumpció Bosch.

Este estudio demuestra por primera vez que 6 meses después de una inyección única de este gen en el sistema nervioso central, se encuentra una mejora duradera y cuantificable de las capacidades de aprendizaje y memoria. Más importante aún, la mejora cognitiva también se observa en ratones de 18 meses de edad tratados con dosis única cuando tenían 12 meses. Estos hallazgos demuestran el potencial terapéutico del gen Klotho como un tratamiento para el deterioro cognitivo asociado con el envejecimiento.



Foto: Shutterstock

### BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Una-terapia-genica-protege-contra-los-deficits-de-memoria-asociados-al-envejecimiento>
- <http://www.uab.cat/web/sala-de-prensa/detalle-noticia/una-terapia-genica-protege-contra-los-deficits-cognitivos-y-de-memoria-asociados-al-envejecimiento-1345667994339.html?noticiaid=1345737892153>
- Massó A., Sánchez A., Bosch A. et al. Secreted aKlotho isoform protects against age-dependent memory deficits. *Molecular Psychiatry*. 2017,00:1–11. DOI:10.1038/mp.2017.211.

## Un trastorno en las hormonas tiroideas puede derivar en problemas emocionales

Las hormonas tiroideas son esenciales para el correcto desarrollo y función del cerebro. Un nuevo estudio en ratones revela que la ausencia de la proteína desyodasa tipo 2, fundamental para lograr unos niveles cerebrales apropiados de hormona tiroidea, desencadena trastornos emocionales derivados probablemente de un estado de hipotiroidismo cerebral.

«Una deficiencia en la disponibilidad de hormonas tiroideas en el cerebro, puede derivar en alteraciones neurológicas graves y trastornos psiquiátricos; en particular, trastornos del estado del ánimo. Esto se debe a que las hormonas tiroideas desempeñan un papel esencial en el desarrollo y función del sistema nervioso central.»

En los ensayos, los ratones presentaron disfunciones emocionales con un aumento en la conducta de ansiedad.

Los resultados subrayan la importancia de mantener niveles apropiados de hormona tiroidea en el cerebro para evitar trastornos emocionales. La glándula tiroidea sintetiza principalmente la pro-hormona T4, pero la mayor parte de las funciones tiroideas son mediadas por la hormona T3, la principal forma activa a nivel genómico. En el cerebro, la desyodasa tipo 2 (D2) tiene una gran importancia, ya que de su actividad depende la formación de T3 a partir de la T4 a nivel local.

Un grupo de científicos del Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols -Centro Mixto de la Universidad Autónoma de Madrid y el Centro Superior de Investigaciones Científicas- y del departamento de Psicobiología de la Universidad Nacional de Educación a Distancia ha llevado a cabo un estudio en el que se analizaron las consecuencias de la deficiencia de D2. Concretamente, los investigadores evaluaron mediante pruebas de comportamiento las capacidades de aprendizaje, memoria y conductas de ansiedad en ratones adultos deficientes de la proteína D2. Además, analizaron el estado tiroideo en dos regiones cerebrales involucradas en estos procesos conductuales: la amígdala y el hipocampo.

Los resultados publicados en *Psychoneuroendocrinology* revelaron que los ratones deficientes de D2 no presentan alteraciones en el aprendizaje y la memoria espacial, funciones dependientes del hipocampo. Sin embargo, los ratones sí mostraron trastornos emocionales tales como una potenciada memoria del miedo y un aumento significativo en la conducta de ansiedad. Todos estos procesos dependen de una correcta función de la amígdala cerebral, región del sistema límbico. Un análisis más profundo reveló que, a pesar de la posible implicación de la amígdala en estos trastornos emocionales, el gen que codifica la D2 no se expresa en esta estructura en ratones adultos, mientras que sí aparece en otras regiones como el hipocampo.

“La evaluación del estado tiroideo de la amígdala y el hipocampo reveló que ambas estructuras cerebrales presentan un estado de hipotiroidismo en los ratones deficientes de D2. En la amígdala, este estado de hipotiroidismo parece estar asociado con un descenso en la expresión de una proteína ligadora de calcio *Calb2*, que podría estar afectando a la actividad neuronal en esa estructura y de este modo, podría contribuir a los trastornos emocionales observados”, detallan los investigadores.

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de mantener niveles apropiados de hormona tiroidea en el cerebro, en especial mediante la generación local de T3 para evitar trastornos emocionales.

Además, las observaciones pueden contribuir a entender los posibles déficits emocionales presentes en humanos con polimorfismos en el gen que codifica la D2 (DIO2).

### BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.agenciasinc.es/Noticias/Un-trastorno-en-las-hormonas-tiroideas-puede-derivar-en-problemas-emocionales>
- Báñez-López S., Montero-Pedrazuela A., Bosch-García D., et al. Increased anxiety and fear memory in adult mice lacking type 2 deiodinase. *Psychoneuroendocrinology*. 2017,84:51-60. DOI:10.1016/j.psyneuen.2017.06.013.

# La proteína Galectina-3, clave en la prevención del aneurisma de aorta

Un equipo de científicos del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV) ha descubierto que los niveles de la proteína Galectina-3 están asociados con el avance del aneurisma de aorta. Su inhibición farmacológica en un modelo experimental con ratones ha supuesto una reducción del diámetro aórtico en la zona afectada. Esto abre un nuevo camino para la prevención y tratamiento de esta enfermedad, al igual que la creación de nuevas dianas terapéuticas.

El aneurisma de aorta abdominal es una patología que consiste en una dilatación localizada y permanente de una región de la aorta, generalmente en su tramo infrarrenal. Esta enfermedad cursa mayoritariamente de forma asintomática, por lo que el diagnóstico se produce en muchos casos de forma casual. Actualmente, no existe ningún tratamiento farmacológico capaz de limitar la progresión del aneurisma o evitar su rotura.

Investigadores del CIBERCV han demostrado en un estudio que los niveles de la proteína Galectina-3 están incrementados en pacientes con aneurisma de aorta abdominal y correlacionándose, por lo tanto, con el avance de esta patología.

En la investigación -dirigida por el Dr. Martín-Ventura, investigador del CIBERCV en la Fundación Instituto de Investigaciones Sanitarias de la Fundación Jiménez Díaz- se evalúa el posible papel de la Galectina-3 como un biomarcador en el pronóstico de pacientes con aneurisma aórtico abdominal. Para evaluar el posible papel terapéutico de la inhibición de esta proteína se ha usado el compuesto MCP (*modified citrus-pectin*), un producto natural derivado de la pectina presente en la piel y pulpa de los cítricos.

investigador José Luis Martín-Ventura, que señala a esta proteína como una nueva vía para ayudar al diagnóstico y prevención de esta enfermedad aórtica, así como dianas terapéuticas aún no definidas.

*“Dado que el compuesto de pectina se puede administrar por vía oral sin generar toxicidad y su uso como complemento dietético ha sido aprobado en países como Estados Unidos, su posible traslación a la clínica sería factible”,* concluye el investigador.



Foto: Shutterstock

« La inhibición farmacológica de la Galectina-3 mediante MCP en un modelo experimental de aneurisma en ratones, se tradujo en una reducción del diámetro aórtico. »

*“El efecto beneficioso de su inhibición mediante fármacos parece estar mediado por una regulación del reclutamiento de monocitos, disminuyendo de esta manera la respuesta inflamatoria”,* explica el

### BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.agenciasinc.es/Noticias/La-proteina-Galectina-3-clave-en-la-prevencion-del-aneurisma-de-aorta>
- Fernández-García C.E., Tarín C., Roldán-Montero R., et al. *Increased galectin-3 levels are associated with abdominal aortic aneurysm progression and inhibition of galectin-3 decrease elastase-induced AAA development.* Clin Sci (Lond). 2017;6;131(22):2707-19. DOI:10.1042/CS20171142.

International Product Supplies Limited



## Feeding the Innovations of Modern Research

- European Manufacture
- Used & Trusted in Facilities Worldwide
- Fast Flexible Lead Times
- Nutritional Expertise & Advice
- Traceability
- Quality Assurance
- Prompt Delivery
- Modern Technology

### *TestDiet*® Europe

- DIO High Fat Range
- Fenbendazole
- Doxycycline
- Helicobacter
- AIN Series
- Tamoxifen

[www.testdiet.com](http://www.testdiet.com)



### *LabDiet.*

- All Species
- Meal
- Autoclavable
- Irradiated
- Extruded
- GLP

[www.labdiet.com](http://www.labdiet.com)



Also available to order  
in Spain and Portugal  
from IPS distributor:

#### **Sodispan Research S.L.**

C/ Isla de Tavira, 14  
28035 Madrid, Spain  
Phone: +34 629159613  
Facsimile: +34 914593962  
Email: [sodispan@sodispan.com](mailto:sodispan@sodispan.com)

# Búsqueda de criterios de bienestar animal: un objetivo, dos actores

**Nerea Marin Izquierdo<sup>1</sup> y Marta Casado Pinna<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Investigación Príncipe Felipe Valencia, Spain

<sup>2</sup>Instituto de Biomedicina de Valencia (IBV-CSIC), Spain

## INTRODUCCIÓN

Desde la implantación de la Directiva Europea 2010/63/UE traspuesta a nuestro ordenamiento jurídico en el Real Decreto RD53/2013, los investigadores nos vemos obligados a cumplir la Ley de las 3Rs y velar por el bienestar animal en nuestros experimentos. En aras de cumplir lo anteriormente expuesto, ningún proyecto de investigación que requiera el uso de animales puede comenzar sin la preceptiva evaluación ética y la autorización final por parte de la respectiva autoridad competente. ¿Qué nos exige la ley? Debemos presentar un proyecto que demuestre la necesidad del uso de animales (ausencia de métodos alternativos-reemplazo). Eso nos resulta fácil. Debemos justificar que el número de animales que van a ser utilizados a lo largo de nuestra experimentación sea el adecuado para alcanzar los objetivos planteados (reducción). Hoy en día existen cada vez más herramientas informáticas que nos ayudan a definir con más precisión nuestros grupos experimentales. Y por último, debemos clasificar los procedimientos según su grado de severidad (Artículo 27 del RD53/2013). La severidad de un procedimiento se determinará por el grado de dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero que se prevé que pueda experimentar un animal de forma individual durante el procedimiento.

Pero no podemos perder de vista que nuestro objetivo es alcanzar ciencia de calidad manteniendo los más altos estándares de bienestar animal. Y ¿cómo conseguimos aunar ambas cosas? ¿Cómo podemos llevar a cabo proyectos de investigación clasificados como severos y a la vez mantener el bienestar animal como el pilar fundamental de nuestras actividades de investigación? Esto se logra gracias a correctos criterios de supervisión y el uso de puntos finales humanitarios adaptados a cada procedimiento. Frecuentemente, nos basamos en guías generales (Morton and Griffiths, 1985) que no se ajustan al modelo experimental utilizado, lo que conlleva una merma en el bienestar y calidad en la investigación. ¿Es posible encontrar

información más precisa sobre las guías de supervisión usadas en los diferentes procedimientos en las bases de datos?

El Artículo 37 del RD53/2013 establece que “cada criador, suministrador y usuario establecerá un órgano encargado del bienestar de los animales” (OEBA). El OEBA debe ocuparse de cuestiones relacionadas con el bienestar de los animales en cuanto a su adquisición, alojamiento, cuidado y utilización y velar por la aplicación del requisito de reemplazo, reducción y refinamiento. Eso implica mantener informados a los investigadores sobre los avances técnicos y científicos en la aplicación de ese requisito. En nuestro caso también nos basamos en guías que marcan las condiciones generales para una evaluación eficaz del bienestar (Hawkins *et al.*, 2011), además de la experiencia adquirida en el trabajo diario. Gracias a ello somos capaces de diseñar protocolos de supervisión y criterios de punto final adaptados a cada investigación de nuestro centro. El contacto con otros estabularios nos permite en muchas ocasiones poder anticiparnos a problemas inherentes a nuevos modelos experimentales y buscar rápidamente soluciones que eviten, en la mayoría de las ocasiones, detener procedimientos ya avanzados. ¿Está este tipo de información al alcance del personal de los estabularios y/o investigadores?

Para contestar a esta pregunta hemos realizado un análisis bibliométrico desde el año 2010 -momento de entrada en vigor de la directiva europea- hasta la actualidad, centrándonos en el ratón como especie más utilizada en investigación biomédica, y cáncer como patología biomédica susceptible de presentar modelos experimentales que pueden ser clasificados como severos. Para nuestra consulta nos hemos centrado en la base de datos *Scopus* (creada en 2004) que es la mayor base de datos de resúmenes y citas de literatura *peer-reviewed*, e incluye no sólo artículos y revisiones sino también conferencias, libros y patentes. Para llevar a cabo este análisis hemos utilizado en el primer triaje como palabras clave ratón OR ratones (*mice OR mouse*), cáncer

como segundo criterio de búsqueda adicional y, por último, hemos añadido al análisis los términos bienestar animal (*animal welfare*) o punto final humanitario (*humane endpoints*). Como nuestra pregunta implicaba que la información estuviera a la disposición de cualquier usuario, añadimos como filtro final que los documentos fueran de acceso público.

Del análisis que hemos llevado a cabo se desprende que no es frecuente encontrar en la literatura artículos al alcance de los investigadores que describan con detalle protocolos de supervisión y criterios de punto final ajustados a modelos concretos, citando la mayoría criterios generales aplicables a cualquier procedimiento experimental.

### PUBLICACIÓN DE TRABAJOS QUE EXPLIQUEN CRITERIOS DE BIENESTAR ANIMAL EN MODELOS EXPERIMENTALES DE CÁNCER.

En el periodo de estudio analizado se publicaron 579.653 documentos que empleaban el ratón como modelo experimental. De ellos, 111.303 versaban sobre cáncer. Al acotar la búsqueda a aquellos textos que consideraron explícitamente el bienestar animal en su trabajo, sólo encontramos 36 documentos, lo que supone un 0,032% de los resultados analizados. Normalmente, la información interesante no suele aparecer en el título o resumen sino en el cuerpo del documento, por lo que necesitamos tener acceso al mismo. Como no todas las instituciones tienen libre acceso a las revistas, nos hemos centrado exclusivamente en aquel material que pudiera ser accesible a potenciales usuarios (investigadores, veterinarios y técnicos). Si consideramos tanto artículos como revisiones de libre acceso, tan sólo 17 artículos en principio hacían referencia a algún parámetro relacionado con bienestar animal (ver Figura 1A).

Otro de los aspectos importantes que marcan un adecuado mantenimiento del bienestar animal es la asignación de criterios de punto final apropiados al procedimiento experimental. Incluimos por ello en nuestra búsqueda del modelo murino de cáncer el término de punto final humanitario. De los 111.303 artículos que usaron el ratón para estudiar cáncer, únicamente 6 documentos incluían en la búsqueda este criterio. Y de ellos, solamente 2 textos eran públicos (ver Figura 1B).

De los artículos seleccionados, uno de ellos corresponde a un documento publicado en 2010 en el que se exponen una serie de recomendaciones para el cuidado y uso de animales en la investigación del cáncer, y que hoy en día es la herramienta que la mayoría de los investigadores emplean para marcar los criterios a seguir para controlar el bienestar animal en estudios oncológicos (Workman *et al.*, 2010). La guía marca aspectos generales a tener en cuenta; sin embargo, en ella se resalta que es necesario adaptar los criterios de manera específica a cada modelo experimental. Si atendemos a esa recomendación, de los artículos analizados, únicamente tres de ellos marcaban pautas para controlar el bienestar animal en modelos concretos de cáncer de próstata (Jacobsen *et al.*, 2013), cáncer intraóseo de columna (Cossigny *et al.*, 2013) y vejiga (Roughan *et al.*, 2014).

En el caso del modelo de xenograft de cáncer de próstata, el artículo detallaba los signos clínicos que el servicio de estabulario de su institución empleó para el seguimiento del bienestar en el modelo. Desde su publicación, el artículo ha sido citado 3 veces y en ninguna de ellas hacen uso de los datos anteriormente indicados. Sin embargo, desde esa fecha han aparecido un total de 26 artículos que empleaban el mismo modelo de experimentación.

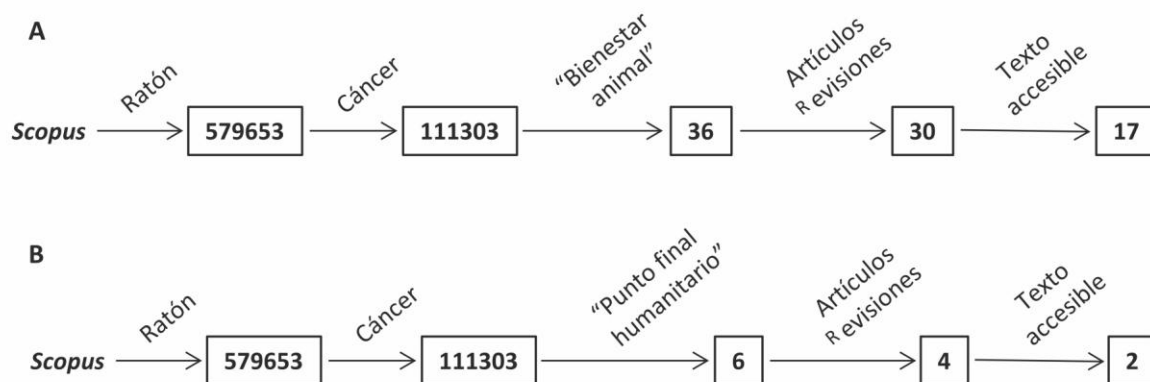


Imagen suministrada por la autoría

Figura 1.- Triaje de artículos para el análisis bibliométrico considerando los términos de: **A.** *Animal welfare* (bienestar animal). **B.** *Humane endpoints* (puntos finales humanitarios).

Es bastante interesante el documento encontrado sobre el modelo de cáncer intraóseo, ya que en él no sólo se describe una nueva técnica para generar un modelo en ratón para el estudio de cáncer en la columna vertebral (un modelo que causa dolor y compromiso neurológico) sino que marca las pautas para hacer un seguimiento sobre el déficit neurológico que se puede presentar en modelos que afecten a médula ósea (ver Figura 2). Desde la fecha de su publicación, únicamente ha recibido una cita que no implementa esta información, si bien existen en la literatura ejemplos de modelos oncológicos de metástasis ósea en columna posteriores a 2014.

**Table 1** Timepoint of neurological decline in each mouse

Neurological decline		
Mouse	Days post-inoculation	Score
Female #1 <sup>MDA-MB-231</sup>	1-20	0
	21	1
	29	2
	31	3
Female #2 <sup>MDA-MB-231</sup>	1-26	0
	27	1
	28	2
	29	3
Female #3 <sup>MDA-MB-231</sup>	1-29	0
	30	1
	31	2
	32	3
Female #4 <sup>MDA-MB-231</sup>	1-34	0
	35	1
	37	2
	40	3
Male #1 <sup>PC-3</sup>	1-21	0
	22	1
	24	2
	26	3
Male #2 <sup>PC-3</sup>	1-39	0
	40	1
	44	2
	45	3

**Figura 2.-** Secuelas clínicas después de la inoculación ortotópica de células cancerosas (Cossigny *et al.*, 2013).

El tercer modelo de cáncer que encontramos en nuestro análisis bibliométrico en el que sus autores reflejaron criterios para el seguimiento del bienestar animal, es el publicado en 2014 por Roughan *et al.* sobre el estudio de signos de dolor en un modelo de cáncer de vejiga. Gracias a su trabajo, se marcan pautas para refinar este modelo usando la línea celular MBT-2,

demostrando que los animales muestran signos de “malestar” (sino dolor) ya a los 7 días post-inoculación, mucho antes de la aparición de cambios en los parámetros que normalmente se usan como criterios de punto final humanitario, como son la pérdida de peso del animal y el tamaño del tumor. Es más, indicaban que se debería añadir como signo de seguimiento el aumento del acicalamiento como signo de distrés. Hasta la fecha, de los 8 artículos que hemos podido detectar en la literatura que usan esta línea celular, ninguno menciona el trabajo de Roughan y colaboradores.

## DISCUSIÓN

La necesidad de implementar el principio de las 3Rs y conseguir llevar a cabo una experimentación que proteja el bienestar del animal sin reducir la calidad de la investigación obliga a investigadores, veterinarios y técnicos de estabularios a aunar esfuerzos para conseguir definir las directrices que consigan los objetivos científicos propuestos y que, a su vez, preserven el bienestar animal. Para ello, son necesarios definir *a priori* unos criterios de supervisión y punto final humanitarios que permitan adoptar medidas para reducir, evitar y aliviar cualquier forma de sufrimiento de los animales a lo largo de toda su vida.

Las publicaciones en las que los investigadores exponen el curso de su trabajo normalmente no exigen con detalle la información relativa a las medidas adoptadas para velar por el bienestar animal, sino que a lo sumo hacen constar las normas y legislación bajo las que está amparado el proyecto experimental. ¿Esta apreciación ha cambiado tras la aplicación de la directiva europea? ¿Está esta información al alcance de investigadores y/o técnicos?

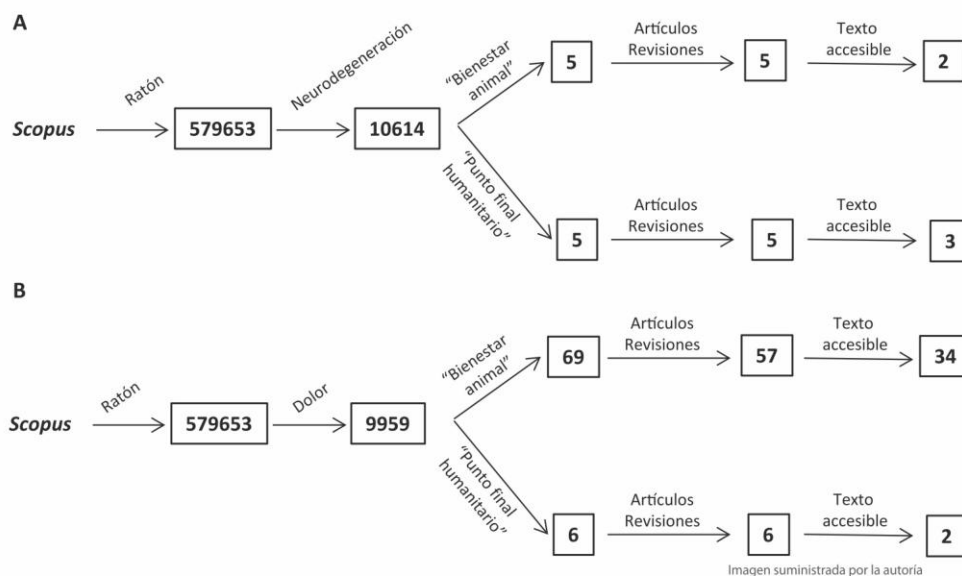
Para poder contestar a estas preguntas hemos llevado a cabo una revisión bibliográfica para demostrar si es posible encontrar datos precisos acerca de criterios personalizados sobre modelos experimentales concretos. Para ello nos centramos en el ámbito científico del cáncer en el que puede ser frecuente provocar distrés en los animales de experimentación. Tanto la generación como la implantación tumoral en modelos animales son actividades experimentales de vital importancia que requieren la consideración del efecto del tumor o tumores en el animal. Es importante implementar sistemas eficaces de vigilancia y criterios de punto final concisos.

Si bien durante este periodo de 7 años se han incrementado las publicaciones detallando medidas éticas de protección

animal, suelen ser informes de grupos de trabajo los que marcan los datos generales a tener en cuenta para llevar a cabo una correcta supervisión. Sin embargo, llevar a cabo una adecuada supervisión del bienestar implica establecer pautas precisas e individualizadas para cada modelo experimental. Y estos estudios son a día de hoy menos abundantes. Esta apreciación no sólo la hemos detectado en modelos de cáncer. En estudios sobre enfermedades neurodegenerativas o dolor, hemos encontrado, siguiendo las mismas reglas de triaje, tan sólo un 0,05% o 0,36% de artículos sobre bienestar animal y criterios de punto final humanitarios, respectivamente (ver Figura 3).

En este mismo sentido, un trabajo en modelos de infección ha mostrado indicadores de progreso en la aprobación ética de los experimentos, la aplicación de puntos finales humanitarios y el uso de rutas de infección menos agresivas, con menor énfasis en cuanto a la implementación del refinamiento, en particular en la definición de puntos finales con un impacto en el bienestar de los animales. En el campo de los estudios experimentales de infecciones importantes como la tuberculosis, una reevaluación de la necesidad de una gran cantidad de estudios para involucrar etapas terminales de la enfermedad parece particularmente pertinente (Franco *et al.*, 2012).

En conclusión, los datos analizados ponen de manifiesto una casi ausencia de publicaciones en las que se definan criterios específicos de punto final humanitario en modelos concretos de cáncer y otras patologías. Se siguen aplicando criterios generalizados o al menos son los que se indican tanto en las publicaciones como en los proyectos en los que se detalla la experimentación con modelos animales. La incongruencia de haber realizado estudios en los que se informa según pautas de bienestar, o de ser aprobado éticamente, cuando las medidas de refinamiento pertinentes pudieran ser inadecuadas, está en contradicción con la opinión ética de los protocolos como medio para asegurar buenas prácticas en animales de investigación. Dado que el objetivo de las investigaciones no suele ser el distrés que provoca en el animal la patología estudiada, deberíamos en pro del refinamiento, publicar no sólo los datos propios de la investigación (primer actor), sino también los datos sobre tablas de supervisión y criterios de punto final con los que día a día trabajamos (segundo actor), definiendo de este modo pautas de supervisión orientadas a modelos experimentales concretos, para que puedan llegar de una manera ágil a investigadores y demás personas implicadas en los procedimientos que puedan requerirlos.



**Figura 3.-** Triage de artículos para el análisis bibliométrico de modelos de enfermedades neurodegenerativas (A) y dolor (B).

## BIBLIOGRAFÍA

- Cossigny D.A., Mouhtouris E., Dushyanthen S., et al. *An in vivo mouse model of intraosseous spinal cancer causing evolving paraplegia*. J Neurooncol. 2013,115(2):189-96. DOI: 10.1007/s11060-013-1226-z.
- Franco N.H., Correia-Neves M., and Olsson I.A. *Animal welfare in studies on murine tuberculosis: assessing and progress over a 12-year period and the need for further improvement*. PLoS One. 2012,7(10):e47723. DOI: 10.1371/journal.pone.0047723.
- Hawkins P., Morton D.B., Burman O., et al. *A guide to defining and implementing protocols for the welfare assessment of laboratory animals: eleventh report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFOW Joint Working Group on Refinement*. Lab Anim. 2011,45(1):1-13. DOI: 10.1258/la.2010.010031.
- Jacobsen K.R., Jørgensen P., Pipper C.B., et al. *The utility of fecal corticosterone metabolites and animal welfare assessment protocols as predictive parameters of tumor development and animal welfare in a murine xenograft model*. In Vivo. 2013,27(2):189-96.
- Morton D.B. and Griffiths P.H. *Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment*. Vet Rec. 1985,20;116(16):431-6.
- Roughan J.V., Coulter C.A., Flecknell P.A., et al. *The conditioned place preference test for assessing welfare consequences and potential refinements in a mouse bladder cancer model*. PLoS One. 2014,6;9(8):e103362. DOI: 10.1371/journal.pone.0103362. eCollection 2014.
- Workman P., Aboagye E.O., Balkwill F., et al. *Committee of the National Cancer Research Institute. Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research*. Br J Cancer. 2010,25;102(11):1555-77. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605642.



PUBLIQUE SUS  
ARTÍCULOS EN  
NUESTRA REVISTA.  
CONTÁCTENOS

[publicidad.revista@secal.es](mailto:publicidad.revista@secal.es)



# Su Colaborador para el Cuidado del Animal de Laboratorio

- Gama Completa
- Innovación Continua

Lechos

Enriquecimiento

Dietas



## Productos Certificados

DIN EN ISO 9001:2008 Y HACCP,  
PEFC Certificado de Economía Forestal Sostenible, Cadena de Custodia y Trazabilidad,  
DIN EN ISO 50001:2011 Sistema de Eficiencia Energética

**LIGNOCEL®**

**ARBOCEL®**

**RETTENMAIER IBÉRICA**  
S.L. Y CIA. S. COM.



Fibras diseñadas  
por la naturaleza  
Una compañía del grupo JRS

Travesera de Gracia 56, 2<sup>a</sup>  
08006 Barcelona

► ¡ Póngase en contacto  
con nuestros expertos !

info@jrsiberica.com • Tel: 933 262 888

# El ignorado (sub) mundo de las sub-cepas: ¿estamos a la deriva?

**Fernando Benavides**

Laboratory Animal Genetic Services, Department of Epigenetics and Molecular Carcinogenesis Science Park,  
The University of Texas - M.D. Anderson Cancer Center

### INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de este artículo es crear conciencia sobre un problema poco atendido: la extendida falta de conocimiento sobre la existencia de las sub-cepas de ratones consanguíneos y, fundamentalmente, el impacto negativo que esta ignorancia puede tener a la hora de realizar experimentos con estos ratones. A lo largo de los últimos 20 años, dedicados especialmente a los controles de calidad genética en ratones de laboratorio, he podido constatar que la falta de atención a las sub-cepas es una constante en el ambiente científico mundial, incluyendo veterinarios, investigadores, becarios y estudiantes. A continuación, voy a presentar algunos ejemplos de sub-cepas que portan diferencias genéticas importantes y que no pueden ser ignoradas a la hora de utilizar estas cepas como modelo animal. Espero que todos los que lean el artículo se sumen a esta causa y puedan a su vez concienciar a otros colegas sobre esta problemática.

### IMPORTANCIA DE LA CALIDAD GENÉTICA Y DE UNA NOMENCLATURA ADECUADA

Antes de ir de lleno a las diferencias entre sub-cepas, repasemos los conceptos básicos y subrayemos un poco por qué son tan importantes la estandarización genética y los controles de calidad. Si bien en el caso de las líneas consanguíneas, estos controles son realizados por todos los vendedores internacionales de ratas y ratones, los controles efectuados sobre las líneas genéticamente modificadas (líneas GEMs o GMAs, por sus siglas en inglés) son mucho más escasos, lo que es sorprendente en estos tiempos en los que la manipulación genética progresa día a día, especialmente con la llegada de la edición genómica por CRISPR-Cas (1).

Las cepas consanguíneas son el prototipo de las líneas genéticamente estandarizadas, debido a que su constitución genética está fijada en forma casi definitiva. Una cepa consanguínea (en inglés, *inbred strain*) es aquella que resulta del acoplamiento sistemático e ininterrumpido entre hermanos y hermanas, por más de 20 generaciones (2). Mediante esta estrategia llegamos a una situación en la que encontramos dos fuerzas actuando en sentidos opuestos: la práctica sistemática de los acoplamientos endogámicos, disminuyendo la variabilidad dentro de la población, y la aparición de mutaciones espontáneas, generando diversidad por la introducción de alelos nuevos. La progresión hacia la consanguinidad se acompaña de la fijación de un alelo único en cada locus, lo que implica la pérdida de alelos en la población en cuestión. Debido a esta situación, decimos que las cepas consanguíneas son isogénicas (genéticamente idénticas) y homoalélicas (portan una única variante por locus). De esta forma, cada línea consanguínea representa una colección única de alelos, imposible de repetir. A diferencia de los animales clonados (o los gemelos idénticos) las cepas consanguíneas tienen un porcentaje de homocigosis altísimo (>98%), donde el juego de cromosomas materno y paterno son casi una fotocopia.

Es fundamental recordar aquí que es muy importante seguir de forma rigurosa la nomenclatura estándar para referirse a las cepas consanguíneas, especialmente en las publicaciones (detallados en Materiales y Métodos). Las reglas de nomenclatura son acordadas por el *International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for Mice y el Rat Genome and Nomenclature Committee* y pueden consultarse en el sitio Web:

<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml>.

Repasemos aquí muy brevemente la nomenclatura para las sub-cepas. Se debe utilizar el nombre de la cepa de origen, seguido de una barra y un símbolo apropiado de sub-cepa. Entre los posibles símbolos de sub-cepa existen: (i) números (DBA/1, DBA/2), (ii) código de laboratorio, con la primera letra en mayúscula (BALB/c, la "J" es el código del Jackson Laboratory), (iii) iniciales de un apellido, con primera letra mayúscula (C3H/He, por Heston) y (iv) la combinación de código y números. Algunas excepciones son permitidas en el caso de líneas muy conocidas como BALB/c, donde la "c" indica albinismo. Los códigos únicos de registro (*lab codes*) para institutos, laboratorios o investigadores son asignados por el *Institute for Laboratory Animal Resources* (ILAR). El uso de estos códigos es recomendado para designar colonias de la misma cepa o sub-cepa, pero mantenidas por diferentes laboratorios, animalarios, o proveedores comerciales. Estos códigos suelen estar formados por tres o cuatro letras (primera letra en mayúscula y el resto en minúscula). Algunos ejemplos de estos códigos son: N (NIH), Kyo (Kyoto University), Tac (Taconic), Pas (Institut Pasteur), Crl (Charles River Laboratory), etc. Podéis consultar los códigos existentes o solicitar un código, en la página Web de ILAR:

<http://dels.nas.edu/global/ilar/Lab-Codes>

## LA INFLUENCIA DEL FONDO GENÉTICO EN LOS FENOTIPOS

Ya a principios de los años 1970 se publicaron artículos que mostraban una gran diferencia en el fenotipo diabético de las mutaciones *diabetes* (*Lep<sup>db</sup>*) y *obese* (*Lep<sup>ob</sup>*), según estuvieran en fondo C57BL/KsJ (nueva nomenclatura C57BLKS/J) o C57BL/6J (3). Estos cambios son atribuidos al "fondo genético", es decir al conjunto de genes presentes en el genoma de la cepa, más allá del gen en estudio. A mediados de la década de 1990, se reportó uno de los primeros casos sobre el efecto del fondo genético en un modelo de ratón *knock-out* (KO). Se trató del KO del gen *Egfr* (*epidermal growth factor receptor*), en el que los ratones homocigotos para la mutación nula en fondo 129/Sv (129X1) mueren durante la gestación, mientras que en fondo CD-1 (grupo exocriado), los mutantes sobreviven hasta la tercera semana de vida (4). Otro caso de modificación del fenotipo fue observado para la mutación espontánea inmunodeficiente *Prkdc<sup>scid</sup>*, en la que la tendencia a producir linfocitos B y T funcionales con la edad es muy variable: alta en BALB/c, baja en C3H, y muy baja en NOD. Desde finales de la década de 1990 se han publicado muchos trabajos sobre esta influencia. Por ejemplo, en estudios de cáncer experimental se ha reportado distinto espectro de tumores espontáneos en ratones portando un alelo nulo del gen supresor

de tumores *Trp53* según el fondo sea C57BL/6 o BALB/c (5); y también una gran variación en la incidencia y el espectro de tumores en ratones KO (heterocigotos) para el gen supresor de tumor *Pten* en diversas cepas consanguíneas (6). En base a estos hallazgos, empezó a prestarse más atención a la influencia que pueden tener los distintos fondos genéticos en los fenotipos (7).

Hay muchos ejemplos más de influencia del fondo genético en el fenotipo de ratas y ratones mutantes, abarcando mutantes espontáneos (8), estudios metabólicos (9), modelos de distrofia muscular (10), y modelos de malaria (11), por mencionar sólo algunos. Un estudio reciente y muy bien diseñado muestra claramente como varios modelos KO manifiestan resultados fenotípicos opuestos (con diferencias estadísticamente significativas) cuando son estudiados en ratones híbridos F1 provenientes de 30 cepas diferentes (12).

Además de la influencia general (indefinida) del fondo genético sobre el fenotipo, es importante considerar que también podemos encontrar variaciones debidas exclusivamente a algún gen en particular, ya sea que flanquea nuestro gen de interés, o que simplemente se encuentran en el genoma de la cepa utilizada. Estos genes se conocen como "genes pasajeros" porque "viajan" junto al transgén o al alelo KO. Recientemente, un trabajo publicado en la prestigiosa revista *Immunity* revela que la probabilidad que una línea KO conlleve genes pasajeros provenientes de las células madre (*E5 cells*) de origen 129 en las que se realizó la modificación genética es realmente muy grande (13).

La problemática del "fondo mixto" en los modelos murinos se vio muy afectada por el hecho de que, durante la década de 1990 y algo más, las mejores células madre utilizadas para generar los KO y KI provenían principalmente de la familia de cepas 129. Considerando que estas cepas presentan una tasa de reproducción baja y que no se encuentra mucha información sobre el efecto de los alelos KO en este fondo, podemos ver por que la mayoría de los investigadores elegían (algunos aún lo hacen) cruzar las quimeras con ratones C57BL/6, generando de esta manera ratones experimentales (y controles) con fondo mixto (por ejemplo, C57BL/6;129P3, donde el "punto y coma" indica "fondo mixto"). El mismo problema se genera al utilizar híbridos F1 o F2 para inyectar transgenes. Una de las ventajas que nos aportan las nuevas técnicas de edición genómica por nucleasas (sean ZFN, TALEN o CRISPR/Cas) es que se pueden inyectar en embriones de cualquier cepa consanguínea, evitando la creación de líneas con fondo mixto.

# Reproducción y genética

## SUB-CEPAS: TODO QUEDA EN FAMILIA

Como hemos mencionado, la aparición constante de mutaciones, fenómeno que actúa en sentido opuesto a la consanguinidad, genera diversidad genética por la introducción de nuevos alelos en la colonia. Debido a la presencia de estas mutaciones espontáneas, y a un mínimo grado de heterocigosis residual, se puede generar, con el tiempo, la divergencia de las cepas en sub-cepas, fenómeno conocido como “deriva génica o genética”. Una línea consanguínea se considera dividida en sub-cepas cuando existen diferencias genéticas, conocidas o probables, en ramas separadas de la misma, según los siguientes casos: (i) cuando una línea se separa en ramas diferentes antes de la generación F40, por el fenómeno de heterocigosis residual, (ii) cuando la rama de una línea ha sido mantenida separada de otras más de 20 generaciones, contando desde los ancestros comunes, y (iii) cuando se descubren diferencias genéticas con otras ramas de la misma línea, ya sea por mutaciones o contaminación genética.

La mayor parte de las diferencias entre sub-cepas son silenciosas (sin fenotipo) y están representadas por polimorfismos en secuencias de ADN no codificante, fundamentalmente microsatélites y polimorfismos de un nucleótido (SNPs, del inglés *single nucleotide polymorphism*; 14,15). Sin embargo, las mutaciones acumuladas pueden tener consecuencias patológicas para una línea (16,17). Como veremos, las sub-cepas son parte del problema de la influencia del fondo genético en los fenotipos, ya que son portadoras de diversas mutaciones que, si bien no están necesariamente ligadas a los genes en estudio, podrían considerarse como genes pasajeros (indeseados).

## LA FAMILIA C57BL/6

C57BL/6 fue históricamente una cepa muy popular y actualmente es la más usada como fondo genético para líneas GEM. Fue además la cepa elegida por el *International Mouse Sequencing Consortium* para la secuenciación del genoma del ratón en el 2002. Como dato curioso, la “Eva” de toda esta familia, fue una hembra que llevaba el número de identificación 57 y que fue cruzada en 1921 con el macho 52. Las crías de color negro, por ser homocigotos para la mutación *nonagouti*, serían los ancestros de la cepa C57BL/6. Este mismo cruce dio también origen a las cepas C57L (pelaje color plomo) y C57BR (pelaje marrón). La separación entre C57BL/6 y C57BL/10 ocurre a mediados de la década de 1930.

En 1929, Clarence Cook Little asumió su función de fundador y primer director del *Jackson Laboratory (JAX)* en *Bar Harbor, Maine*, Estados Unidos; considerado aún como la Meca de la genética del ratón de laboratorio. Es aquí donde se establece definitivamente la línea que dará origen a todas las sub-cepas de C57BL/6 (abreviatura oficial B6). La línea ancestral proveniente de la colonia de Little es la que desemboca en la que hoy en día llamamos sub-cepa C57BL/6J, con la salvedad que, tras el gran incendio de 1947, la línea se restableció en 1948 a partir de ratones (endocría F24) de la colonia del Dr. Hall.

Sin embargo, a lo largo de las décadas, y debido a la creación de nuevas colonias fuera del JAX, se han generado diversas sub-cepas. Por ejemplo, C57BL/6J (B6/J) del JAX y C57BL/6N (B6/N) de los Institutos Nacionales de la Salud de los Estados Unidos (NIH) fueron separadas en 1951. La menos popular sub-cepa C57BL/6ByJ (Bailey) fue separada de C57BL/6N en 1961. A su vez, especialmente desde los años 1970, se generaron nuevas colonias a partir de la sub-cepa C57BL/6N. Por ejemplo, en 1974 tanto Charles River Laboratories (Charles River) como Harlan (Envigo) comenzaron la producción de las sub-cepas C57BL/6NCrl y C57BL/6NHsd, respectivamente. La misma sub-cepa N fue más tarde adquirida por Taconic en 1984 y 1991 (C57BL/6NTac), Janvier en 1993 (C57BL/6NRj), e inclusive JAX (sí, el JAX además de “J” vende también sub-cepa “N” -C57BL/6NJ- como indican las letras NJ). Finalmente, en Europa Envigo distribuye la sub-cepa C57BL/KaLwRijHsd que es una rama de los ratones originales del JAX pero que fue separada en 1947 (utilizada casi exclusivamente como modelo de mieloma múltiple).

En las décadas de 1970 y 1980 también se comenzaron colonias independientes descendientes de C57BL/6J. La denominada sub-cepa Eicher (C57BL/6JEIj) fue separada de C57BL/6J en 1976 y mantenida en forma independiente desde ese año. La sub-cepa C57BL/6JOLaHsd se creó en Reino Unido (Harlan Olac) y la sub-cepa C57BL/6JRccHsd se formó en Suiza (RCC). Ambas son distribuidas exclusivamente en Europa por Envigo. La sub-cepa C57BL/6JBomTac se formó en Alemania (Hannover) a comienzo de 1970 y es distribuida actualmente por Taconic en Europa. Charles River también vende C57BL/6J, pero exclusivamente fuera de los Estados Unidos.

Para no extenderme demasiado, voy a detallar especialmente las mutaciones diferenciales presentes en las dos sub-cepas más utilizadas: C57BL/6J (JAX stock No. 000664 y otros proveedores) y

C57BL/6N (JAX stock No. 005304 y otros proveedores). De todas formas, la **Tabla 1** resume las mutaciones presentes en todas las sub-cepas de C57BL/6 mencionadas más arriba, que pueden afectar diversos estudios, incluyendo neurológicos y de comportamiento (18-23).

En 2013 fue publicada la secuencia completa del genoma de C57BL/6N, acompañada de un análisis comparativo (genotípico y fenotípico) de esta sub-cepa con C57BL/6J (24). Las variantes genómicas confirmadas incluyen 34 SNPs codificantes, 2 pequeños *indels* codificantes, 146 SNPs no codificantes y 54 pequeños *indels* no codificantes. Para un simple control genético que permita diferenciar esta sub-cepas se puede usar un grupo reducido de marcadores SNPs (25,26). Resumiremos a continuación solamente las variantes que tienen implicación fenotípica y/o que pueden interferir con ciertos ensayos.

Una de las primeras variantes detectada fue la deleción en el gen *Nnt*, identificada originalmente como un locus que explicaba la intolerancia a la glucosa en los C57BL/6J (27). Es fundamental considerar esta mutación si se trabaja con modelos de obesidad inducida por la dieta, diabetes tipo II, o síndrome metabólico, ya que confiere a estos ratones una secreción reducida de insulina y un defectuoso metabolismo de la glucosa (28,29). Un artículo publicado recientemente demuestra claramente que usando dos

grupos independientes de controles (ratones salvajes - WT) provenientes de las cepas C57BL/6N y C57BL/6J se puede llegar a conclusiones diametralmente opuestas a la hora de evaluar la función de un alelo nulo en una línea KO (30). Esta mutación en el gen *Nnt* no se encuentra en ninguna de las otras sub-cepas, incluyendo C57BL/6N, C57BL/6ByJ y C57BL/6JEI.

La otra mutación que merece ser comentada es la que se presenta en el gen *Crb1*, en este caso exclusivamente en la sub-cepa C57BL/6N (*retinal degeneration 8 - Crb1<sup>rd8</sup>*; 31). Todos los ratones de esta sub-cepa (sin importar cuál sea el proveedor) son homocigotos para esta mutación, lo mismo que las células madre originadas de esta sub-cepa (p. ej.: las de EUCOMM-IMPC). Los ratones mutantes presentan lesiones oculares y visión reducida a partir de las 6 semanas de vida, por lo que puede ser dramático ignorar este detalle a la hora de trabajar con modelos KO en el campo de la investigación del ojo y la visión.

## EL CLAN 129

La familia 129 es en realidad un grupo heterogéneo de cepas que comparten un origen común en la década de 1920, pero que despliegan una gran variedad genética, incluyendo diferente color de pelaje y comportamiento (32), y hasta rastros de contaminación con otras cepas. Con cierta variabilidad entre sub-

**Tabla 1.-** Resumen de las mutaciones presentes en todas las sub-cepas de C57BL/6 mencionadas.

Sub-cepa	Proveedor	Gene afectado (alelo mutante)						
		<i>Nnt</i> ( <i>Nnt<sup>rd8</sup></i> )	<i>Crb1</i> ( <i>Crb1<sup>rd8</sup></i> )	<i>Snca</i> ( <i>Snca<sup>del1</sup></i> ) <sup>1</sup>	<i>Mmrn1</i> ( <i>Mmrn1<sup>del1</sup></i> ) <sup>1</sup>	<i>Nlrp12</i> ( <i>Nlrp12<sup>del1</sup></i> ) <sup>1</sup>	<i>Dock2</i> ( <i>Dock2<sup>del1</sup></i> ) <sup>1</sup>	<i>Cyfp2</i> ( <i>Cyfp2<sup>del1</sup></i> ) <sup>1</sup>
C57BL/6J	JAX (C57BL/6J)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)
	CRL (Europa) (C57BL/6JCrI)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	no testeado	supuestamente WT	Salvaje (WT)
	Janvier (C57BL/6JRj)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	no testeado	supuestamente WT	Salvaje (WT)
C57BL/6N	JAX (C57BL/6NJ)	Salvaje (WT)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	MUTADO
	CRL (C57BL/6NCrI)	Salvaje (WT)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	supuestamente WT	Salvaje (WT)	MUTADO
	Envigo (C57BL/6NHsd)	Salvaje (WT)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	supuestamente WT	MUTADO	MUTADO
	Taconic (C57BL/6NTac)	Salvaje (WT)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	supuestamente WT	Salvaje (WT)	MUTADO
	Janvier (C57BL/6NRj)	Salvaje (WT)	MUTADO	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	supuestamente WT	supuestamente WT	MUTADO
C57BL/6ByJ	JAX	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	no testeado	no testeado	Salvaje (WT)
C57BL/6JEI	JAX	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	no testeado	no testeado	Salvaje (WT)
C57BL/6JOIaHsd	Envigo	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	MUTADO	MUTADO	no testeado	no testeado	no testeado
C57BL/6JRcHsd	Envigo	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	no testeado	no testeado	no testeado
C57BL/6JBomTac	Taconic <sup>2</sup>	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	Salvaje (WT)	no testeado	no testeado	no testeado

<sup>1</sup> Del(6)Snca1Slab

<sup>2</sup> Una mutación en el cromosoma Y fue recientemente identificada en esta sub-cepa C57BL/6JBomTac

## Reproducción y genética

cepas, los 129 son reconocidos por presentar una alta incidencia de teratomas testiculares espontáneos, lo que tiene relación con el hecho de que es la cepa con la que se pueden crear líneas de células madres con más facilidad. Hoy en día se reconocen cuatro grupos dentro de los 129: designados con las letras P (sub-cepas derivadas directamente de la línea parental), S (sub-cepas derivadas de una línea que portaba la mutación *Steel*), T (sub-cepas derivadas de una línea que portaba la mutación teratoma-ter), y X (sub-cepa derivada de una línea con contaminación genética) (33).

Muchas de las sub-cepas de 129 portan el alelo  $A^w$  (*white-bellied agouti*) y son por lo tanto, color agutí (gris jaspeado) con el vientre claro, pero en las sub-cepas que tienen alelos mutantes en el gen de la tirosinasa (*Tyr*) el color agutí no se expresa y los ratones son albinos o chinchilla. Otras sub-cepas son homocigotas para el alelo mutante  $p$  (*pink-eyed dilution*, modelo de albinismo oculocutáneo de tipo 2, *OCA2*), ya presente en el núcleo original 129. Las sub-cepas 129X1/SvJ, 129P1, 129P2 y 129P3, son albinas o chinchilla, mientras que las que pertenecen al grupo *Steel* (129S1, 129S2, 129S3, 129S4, 129S5, 129S6, 129S7 y 129S8) son

agutí con vientre claro. Debido a estas variantes, a fines de los años 1990 se revisó (y modificó) la nomenclatura de este grupo de sub-cepas (ver Tabla 2). La información completa puede obtenerse en el sitio Web del MGI:

[http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strain\\_129.shtml](http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strain_129.shtml).

Entre las mutaciones espontáneas presentes en esta familia se encuentran: (i) una delección en el gen *Cdt1* en algunas sub-cepas del grupo P y S, la misma afectaría la regulación del ciclo celular y metabolismo del ADN (34); (ii) una mutación con cambio de amino ácido en el gen *Slc3a1* en la sub-cepa 129S2/SvPas. En este caso, puede servir como modelo de cistinuria tipo A (35); (iii) una delección en el gen *Disc1* en la sub-cepa 129S6/SvEv que afectaría los estudios de comportamiento que miden la memoria (36). Esta misma mutación se encuentra en algunos grupos de ratones exocriados albinos Swiss; (iv) una delección en el gen *Casp4* que se encuentra presente en 129X1, 129S1, 129S2, 129S6 y 129P3.

**Tabla 2.-** Nomenclatura de la de sub-cepa 129.

	Vieja Nomenclatura	Nueva Nomenclatura	Abreviación	Color pelaje	Células ES
Grupo P (Parent)	129/ReJ	129P1/ReJ	129P1	chinchilla claro, con ojos rojos y vientre blanco	
	129/OlaHsd	129P2/OlaHsd	129P2	chinchilla claro, con ojos rojos y vientre blanco	E14; E14.1
	129/J	129P3/J	129P3	chinchilla claro, con ojos rojos y vientre blanco (también albino)	EMS32
Grupo S (Steel)	129/SvImJ	129S1/SvImJ	129S1	Agutí con vientre claro	W9.5; CJ7
	129/SvPas	129S2/SvPas	129S2		D3; D3H
	129/SvJae	129S4/SvJae	129S4		Ak7; RF8
	129/SvEvBrd	129S5/SvEvBrd	129S5		Lex-1; Lex-2
	129/SvEvTac	129S6/SvEvTac	129S6		It2; KG1
	129/SvEvBrd	129S7/SvEvBrd	129S7		Ab1; AB2.1
	129/SvEv	129S8/SvEv	129S8		
Grupo T (Teratoma)	129/Sv	129T1/Sv	129T1	Chinchilla con vientre claro	C1368
	129/SvEms	129T2/SvEms	129T2		
Línea contaminada	129/SvJ	129X1/SvJ	129X1	Chinchilla claro, con ojos rojos y vientre blanco	C1; C13

# Cirugía en el Ratón

Unas buenas prácticas perioperatorias son críticas para asegurar el éxito de una intervención quirúrgica y el bienestar de los animales. En este póster resumimos los puntos críticos a tener en cuenta.



## Asepsia y Cuidados Prequirúrgicos



Aplica gel oftalmológico en los ojos para evitar que se resequen y como consecuencia se produzcan úlceras.



Limpia la piel con agua, jabón y alcohol.



Depila el área que vayas a intervenir.



Desinfecta con povidona yodada o clorhexidina.



Cubre la zona con paños de campo.



Utiliza siempre material quirúrgico estéril.



Procura que durante la cirugía el material esté controlado y sobre una superficie estéril.



Si operas varios animales, introduce las puntas del material en las esferas de cristal durante 30 segundos. ¡¡Cuidado con no quemarte!!

- La baja temperatura es una importante causa de muerte durante la cirugía.
- Por ello, nada más anestesiado, mantén siempre al animal sobre una manta eléctrica.

## Temperatura e Hidratación



Mantén siempre al animal sobre una manta eléctrica. Si usas la manta con autorregulación, recuerda que la sonda ha de permanecer siempre dentro del recto para evitar sobrecalentamientos.



Aplica suero fisiológico, atemperado y estéril, siempre y cuando sea necesario, para evitar que las vísceras se resequen.



Atempera el suero metiéndolo entre una manta eléctrica doblada sobre sí misma. Si además acoplas a la botella de suero un filtro de bacterias, puedes ir sacando suero repetidamente con la jeringa.



Si tu cirugía ha durado más de 20 minutos, es conveniente que inyectes 0,3 ml de suero salino subcutáneo atemperado al final de la intervención.

## Suturas y Recuperación



Realiza una sutura continua en la pared abdominal, con cuidado de no atrapar ninguna víscera.



Los ratones tienden a quitarse los puntos de la piel, siendo ésta una causa frecuente de fracaso quirúrgico. Para evitar esto, sutura la piel con puntos sueltos. Las grapas y/o el pegamento quirúrgico pueden ser una buena alternativa para incisiones pequeñas.



Aplica povidona yodada o clorhexidina sobre los puntos. También puedes aplicar Nobecutan® para recubrir la herida.



Deja al animal en un ambiente templado (por ejemplo, en una cámara de calor o bajo una lámpara de infrarrojos) hasta que se despierte. Una vez despierto, ponlo en su cubeta con agua y comida, y colócalo en su sala correspondiente.

## LOS PRIMOS BALB/c

La cepa BALB (Bagg albino) fue comenzada por Halsey J. Bagg en New York a partir de ratones de un tienda de mascotas de Ohio en 1913. En los años 1930 el futuro premio Nobel George Snell los trasladó al JAX. Esta colonia del JAX es la que da origen en forma directa a la sub-cepa BALB/cJ y es la base de todas las sub-cepas de BALB/c usadas en la actualidad. Si bien existen diversas sub-cepas de BALB/c dispersas por el mundo, vamos a concentrarnos en las tres más conocidas, y disponibles de proveedores comerciales.

Los ratones BALB/c son muy usados para la producción de anticuerpos monoclonales por la facilidad con la que producen plasmocitomas tras la inyección de aceites minerales como el Pristane™. Sin embargo, no todas las sub-cepas son adecuadas, las derivadas de la sub-cepa Andervont (An) -incluyendo BALB/cByJ- son susceptibles, pero no así la BALB/cJ. Además, la sub-cepa BALB/cJ es mucho más agresiva que las sub-cepas BALB/cAnN y BALB/cByJ, diferencia que podría estar asociada a polimorfismos en sus genomas (CNV, *copy number variants*; 37).

La sub-cepa BALB/cAnN se origina de un grupo donado al Dr. Andervont en 1935 y que luego fue trasladado al NIH en 1951. Como podemos ver, esta sub-cepa del NIH tiene 82 años de divergencia con la original del JAX, y es la sub-cepa distribuida por grandes vendedores como Charles River, Envigo y Taconic (que además provee la sub-cepa BALB/cJBomTac).

La sub-cepa BALB/cByJ se origina de BALB/cAnN, de la que fue separada en 1961 y mantenida por el Dr. Bailey (By). Al igual que BALB/cAnN, es muy buena para producir anticuerpos monoclonales. Esta sub-cepa es además homocigota para el alelo mutante *Cdh23<sup>ah1</sup>*, que produce pérdida de la audición asociada a la edad y está presente en una veintena de cepas consanguíneas. Otras mutaciones presentes en BALB/cByJ afectan los genes *Acads* (*Acads<sup>delJ</sup>*) y *Ahr* (*Ahr<sup>b-2</sup>*).

## LOS HERMANOS C3H

La cepa C3H fue desarrollada por Leonell C. Strong en los años 1920 cruzando ratones albinos de Halsey Bagg con ratones DBA de Little. Si bien existieron diversas sub-cepas (muchas persisten), aquí mencionaremos solamente las dos más populares y que tienen más probabilidades de causarnos problemas si no conocemos las diferencias, especialmente en el área de la inmunología. La sub-cepa C3H/HeJ (JAX) porta en el cromosoma

4 una mutación que la hace responder en forma defectuosa a los lipopolisacáridos (LPS) de bacterias gram negativas, y por lo tanto estos ratones son muy susceptibles a infecciones con este tipo de organismos (p. ej.: *Salmonella spp.*). Esta mutación (aparentemente surgida en 1952) es una sustitución de C por A en el exón 3 del gen *Tlr4* (*toll-like receptor 4*) que resulta en un cambio de amino ácido (*Tlr4<sup>LPS-d3</sup>*) (38). En cambio, la sub-cepa C3H/HeN (trasladada al NIH en 1951) porta el alelo normal (salvaje) y tiene una respuesta vigorosa frente a los LPS. La mayoría de las compañías comerciales venden esta última sub-cepa del NIH. Estas mismas sub-cepas tienen diferente fenotipo si son usadas como modelo de espondilitis inducida por proteoglicanos (39). Cuando estas dos sub-cepas fueron genotipadas usando un panel de 70.000 SNPs (*MegaMUGA array*), unos 827 SNPs resultaron ser variantes (homocigotos para un nucleótido diferente).

## OTROS ENREDOS FAMILIARES

C.C. Little comenzó a endocriar la primera cepa consanguínea de ratones de la historia en 1909, seleccionando ratones que fueran homocigotos para tres mutaciones recesivas afectando el color del pelaje: *dilute* (*Myo<sup>5a</sup><sup>d</sup>*), *brown* (*Typr1<sup>b</sup>*) y *nonagouti* (*a*), de allí su nombre DBA. De este grupo original se separaron en 1930 las sub-cepas DBA/1 y DBA/2. La diferencia entre estas dos sub-cepas es sustancial, probablemente debida a que la colonia original presentaba heterocigosis residual en el momento de la separación. Entre las diferencias encontramos incluso un haplotipo diferente del complejo mayor de histocompatibilidad H2 (DBA/1 es H2<sup>n</sup> y DBA/2 es H2<sup>g</sup>). Cuando son genotipadas con el panel MegaMUGA, presentan alelos diferenciales en 214 SNPs.

En el año 2008, se publicó la existencia de una mutación en el gen *Skint1* en la sub-cepa FVB/NTac (es decir, exclusivamente en los FVB/N vendidos por Taconic). Esta mutación genera una proteína trunca y es, por lo tanto, un KO natural para este gen (40). Es muy importante tener en cuenta este dato en el caso de utilizar estos ratones ya que esta proteína tiene funciones en la selección y mantenimiento de las células T gamma delta y probablemente en otros aspectos de la respuesta inmune.

Un último ejemplo lo constituyen las sub-cepas CBA/J y CBA/CaJ; la primera porta la mutación *rd1* (*Pde6b<sup>rd1</sup>*) y por lo tanto queda ciega dentro del primer mes de vida, la segunda no tiene dicha mutación y por lo tanto su visión es normal. Esta misma mutación se encuentra en las cepas C3H, FVB/N, SJL/J, y SWR/J.

## CÓMO MEJORAR EL ESCENARIO ACTUAL

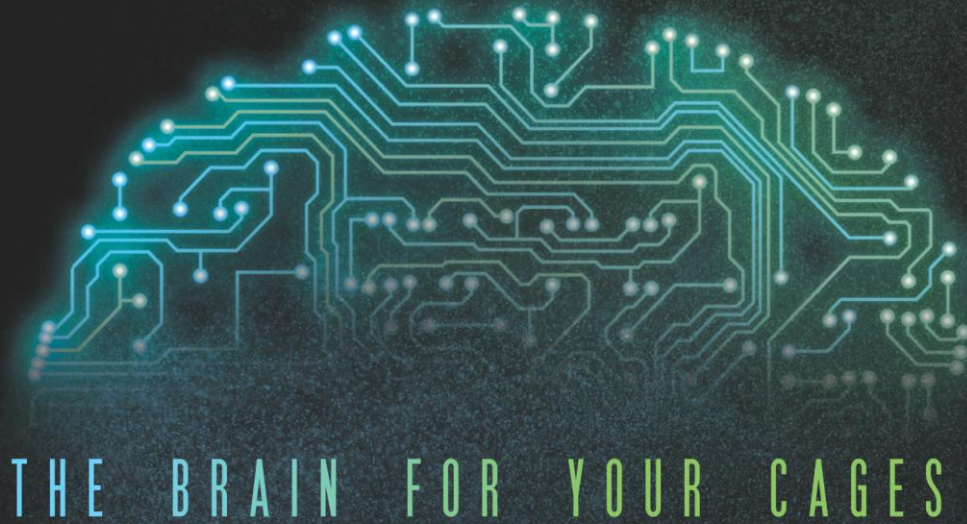
La mejor solución a la problemática presentada en esta revisión es, sin lugar a dudas, la educación. Habría que incluir esta temática en los planes de estudio de los estudiantes de ciencias de la salud, en cursos de posgrado, etc. Igualmente, deberíamos informar (por ejemplo, con afiches, seminarios y cursos) a todo el personal relacionado con animalarios, a los becarios, y fundamentalmente a los investigadores a cargo de laboratorios de experimentación. Finalmente, los comités de ética que revisan los experimentos con ratones podrían requerir el uso de nomenclatura estándar e incluso aconsejar a los investigadores que se aseguren de usar la cepa y sub-cepa más adecuada a sus experimentos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Fernandez A., Josa S., and Montoliu L. *A history of genome editing in mammals*. *Mamm Genome*. 2017,28:237-46. DOI:10.1007/s00335-017-9699-2.
2. Benavides F. and Guénet J.L. *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio*. Laboratory Animals Ltd. 2003.
3. Coleman D.L. and Hummel K.P. *The influence of genetic background on the expression of the obese (Ob) gene in the mouse*. *Diabetologia*. 1973,9:287-93.
4. Threadgill D.W., Dlugosz A.A., Hansen L.A. et al. *Targeted disruption of mouse EGF receptor: effect of genetic background on mutant phenotype*. *Science*. 1995,269:230-4.
5. Kuperwasser C., Hurlbut G.D., Kittrell F.S. et al. *Development of spontaneous mammary tumors in BALB/c p53 heterozygous mice. A model for Li-Fraumeni syndrome*. *Am J Pathol*. 2000,157:2151-9. DOI:10.1016/S0002-9440(10)64853-5.
6. Freeman D., Lesche R., Kertesz N. et al. *Genetic background controls tumor development in PTEN-deficient mice*. *Cancer Res*. 2006,66:6492-6. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-05-4143
7. Linder C.C. *The influence of genetic background on spontaneous and genetically engineered mouse models of complex diseases*. *Lab Anim (NY)*. 2001,30:34-9.
8. Dang R., Torigoe D., Sasaki N. et al. *QTL analysis identifies a modifier locus of aganglionosis in the rat model of Hirschsprung disease carrying Ednrb (sl) mutations*. *PLoS One*. 2011,6:e27902. DOI:10.1371/journal.pone.0027902.
9. Champy M.F., Selloum M., Zeitler V. et al. *Genetic background determines metabolic phenotypes in the mouse*. *Mamm Genome*. 2008,19:318-31. DOI:10.1007/s00335-008-9107-z.
10. Calyjur P.C., Almeida Cde F., Ayub-Guerrieri D. et al. *The mdx Mutation in the 129/Sv Background Results in a Milder Phenotype: Transcriptome Comparative Analysis Searching for the Protective Factors*. *PLoS One*. 2016,11:e0150748. DOI:10.1371/journal.pone.0150748.
11. Geurts N., Martens E., Verhenne S. et al. *Insufficiently defined genetic background confounds phenotypes in transgenic studies as exemplified by malaria infection in Tlr9 knockout mice*. *PLoS One*. 2011,6:e27131. DOI:10.1371/journal.pone.0027131.
12. Sittig L.J., Carbonetto P., Engel K.A. et al. *Genetic Background Limits Generalizability of Genotype-Phenotype Relationships*. *Neuron*. 2016,91:1253-9. DOI:10.1016/j.neuron.2016.08.013.
13. Vanden Berghe T., Hulpiau P., Martens L. et al. *Passenger Mutations Confound Interpretation of All Genetically Modified Congenic Mice*. *Immunity*. 2015,43:200-9. DOI:10.1016/j.immuni.2015.06.011.
14. Stevens J.C., Banks G.T., Festing M.F., et al. *Quiet mutations in inbred strains of mice*. *Trends Mol Med*. 2007,13:512-9. DOI:10.1016/j.molmed.2007.10.001.
15. Perez C.J., Dumas A., Vallieres L., et al. *Several classical mouse inbred strains, including DBA/2, NOD/Lt, FVB/N, and SJL/J, carry a putative loss-of-function allele of Gpr84*. *J Hered*. 2013,104: 565-71. DOI:10.1093/jhered/est023.
16. Peters H., Reifenberg K., and Wedekind D. *Substrains of Inbred Strains*. GV-SOLAS Specialist Information. 2013.
17. Linder C.C. *Genetic variables that influence phenotype*. *ILAR J*. 2006,47:132-40.
18. Specht C.G. and Schoepfer R. *Deletion of the alpha-synuclein locus in a subpopulation of C57BL/6J inbred mice*. *BMC Neurosci*. 2001,2:11.
19. Kiselycznyk C. and Holmes A. *All (C57BL/6) Mice are not Created Equal*. *Front Neurosci*. 2011,5:10. DOI:10.3389/fnins.2011.00010.
20. Reheman A., Tasneem S., Ni H., et al. *Mice with deleted multimerin 1 and alpha-synuclein genes have impaired platelet adhesion and impaired thrombus formation that is corrected by multimerin 1*. *Thromb Res*. 2010,125:e177-183. DOI:10.1016/j.thromres.2010.01.009.
21. Kraev A. *Parallel universes of Black Six biology*. *Biol Direct*. 2014,9:18. DOI:10.1186/1745-6150-9-18.
22. Ulland T.K., Jain N., Hornick E.E. et al. *Nlrp12 mutation causes C57BL/6J strain-specific defect in neutrophil recruitment*. *Nat Commun*. 2016,7:13180. DOI:10.1038/ncomms13180.
23. Mahajan V.S., Demissie E., Mattoo H. et al. *Striking Immune Phenotypes in Gene-Targeted Mice Are Driven by a Copy-Number Variant Originating from a Commercially Available C57BL/6 Strain*. *Cell Rep*. 2016,15:1901-9. DOI:10.1016/j.celrep.2016.04.080.
24. Simon M.M., Greenaway S., White J.K. et al. *A comparative phenotypic and genomic analysis of C57BL/6J and C57BL/6N mouse strains*. *Genome Biol*. 2013,14:R82. DOI:10.1186/gb-2013-14-7-r82.

25. Zurita E., Chagoyen M., Cantero M. *et al.* Genetic polymorphisms among C57BL/6 mouse inbred strains. *Transgenic Res.* 2011,20:481-9. DOI:10.1007/s11248-010-9403-8.
26. Mekada K., Hirose M., Murakami A. *et al.* Development of SNP markers for C57BL/6N-derived mouse inbred strains. *Exp Anim.* 2015,64:91-100. DOI:10.1538/expanim.14-0061.
27. Freeman H.C., Hugill A., Dear N.T. *et al.* Deletion of nicotinamide nucleotide transhydrogenase: a new quantitative trait locus accounting for glucose intolerance in C57BL/6J mice. *Diabetes.* 2006,55:2153-6. DOI:10.2337/db06-0358.
28. Nicholson A., Reifsnyder P.C., Malcolm R.D. *et al.* Diet-induced obesity in two C57BL/6 substrains with intact or mutant nicotinamide nucleotide transhydrogenase (*Nnt*) gene. *Obesity (Silver Spring).* 2010,18:1902-5. DOI:10.1038/oby.2009.477.
29. Fontaine D.A. and Davis D.B. *Attention to Background Strain Is Essential for Metabolic Research: C57BL/6 and the International Knockout Mouse Consortium.* *Diabetes.* 2016,65:25-33. DOI:10.2337/db15-0982.
30. Bourdi M., Davies J.S., and Pohl L.R. *Mispairing C57BL/6 substrains of genetically engineered mice and wild-type controls can lead to confounding results as it did in studies of JNK2 in acetaminophen and concanavalin A liver injury.* *Chem Res Toxicol.* 2011,24:794-6. DOI:10.1021/tx200143x.
31. Mattapallil M.J., Wawrousek E.F., Chan C.C. *et al.* The *Rd8* mutation of the *Crb1* gene is present in vendor lines of C57BL/6N mice and embryonic stem cells, and confounds ocular induced mutant phenotypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012,53:2921-7. DOI:10.1167/iovs.12-9662.
32. Boleij H., Salomons A.R., van Sprundel M., *et al.* Not all mice are equal: welfare implications of behavioural habituation profiles in four 129 mouse substrains. *PLoS One.* 2012,7:e42544. DOI:10.1371/journal.pone.0042544.
33. Simpson E.M., Linder C.C., Sargent E.E. *et al.* Genetic variation among 129 substrains and its importance for targeted mutagenesis in mice. *Nat Genet.* 1997,16:19-27. DOI:10.1038/ng0597-19.
34. Coulombe P., Gregoire D., Tsanov N., *et al.* A spontaneous *Cdt1* mutation in 129 mouse strains reveals a regulatory domain restraining replication licensing. *Nat Commun.* 2013,4:2065. DOI:10.1038/ncomms3065.
35. Livrozet M., Vandermeersch S., Mesnard L. *et al.* An animal model of type A cystinuria due to spontaneous mutation in 129S2/SvPasCrl mice. *PLoS One.* 2014,9:e102700. DOI:10.1371/journal.pone.0102700.
36. Koike H., Arguello P.A., Kvajo M., *et al.* *Disc1* is mutated in the 129S6/SvEv strain and modulates working memory in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006,103:3693-7. DOI:10.1073/pnas.0511189103.
37. Velez L., Sokoloff G., Miczek K.A., *et al.* Differences in aggressive behavior and DNA copy number variants between BALB/cJ and BALB/cByJ substrains. *Behav Genet.* 2010,40:201-10. DOI:10.1007/s10519-009-9325-5.
38. Poltorak A., He X., Smirnova I. *et al.* Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science.* 1998,282:2085-8.
39. Glant T.T., Bárdos T., Vermes C. *et al.* Variations in susceptibility to proteoglycan-induced arthritis and spondylitis among C3H substrains of mice: evidence of genetically acquired resistance to autoimmune disease. *Arthritis Rheum.* 2001,44:682-92. DOI:10.1002/1529-0131(200103)44:3<682::AID-ANR118>3.0.CO;2-E.
40. Boyden L.M., Lewis J.M., Barbee S.D. *et al.* *Skint1*, the prototype of a newly identified immunoglobulin superfamily gene cluster, positively selects epidermal gammadelta T cells. *Nat Genet.* 2008,40:656-62. DOI:10.1038/ng.108.

 **TECNIPLAST**<sup>®</sup>



THE BRAIN FOR YOUR CAGES

Living in the Digital Cage.  
Technology to transform cage data collection into improved animal care!

DVC™ is a Tecniplast trademark.



Find more on [www.tecniplast.it](http://www.tecniplast.it)

# La predicción con cultivos neuronales del riesgo de depresión o suicidio inducidos por medicamentos

**Guillermo Repetto, Consuelo Álvarez Herrera, Ana del Peso y Sara Maisanaba**  
Área de Toxicología, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla

## INTRODUCCIÓN

Los cambios comportamentales inducidos por los medicamentos y las drogas suponen un ámbito imprescindible de estudio experimental. Aunque actualmente no existe ningún procedimiento aprobado, ni *in vivo* ni *in vitro*, para la predicción reguladora de dichos efectos adversos, acaba de presentarse al Laboratorio Europeo de Referencia sobre Métodos Alternativos (EURL ECVAM) una pre-propuesta de validación de un ensayo con cultivos celulares que parece ser capaz de lograrlo.

## BASES MOLECULARES DEL SUICIDIO Y LA DEPRESIÓN

Las anomalías específicas cerebrales en la transmisión serotoninérgica parecen ser la base del comportamiento suicida (Weisman *et al.*, 2016). Las alteraciones de la edición del ácido ribonucleico (ARN) en el pre-ARN mensajero (ARNm) del receptor de serotonina 2C (HTR2C) en el cerebro de suicidas producen transcritos que atenúan la señalización 5-HT<sub>2</sub>CR, al alterar el acoplamiento intracelular de la proteína G y la posterior transducción de la señal intracelular. En los mamíferos, la edición de ARNm implica principalmente la desaminación hidrolítica de adenosinas a inosinas, que luego se leen como guanosinas. Las adenosinas modificadas son imbuídas en estructuras de ARNm bicatenario y reconocidas por una familia de enzimas que se denominan adenosina desaminasas, que actúan sobre el ARN.

En el cerebro, la distribución de enzimas de edición de ARN que catalizan esta desaminación postranscripcional muestra variación regional, incluso dentro de la corteza cerebral. Weisman *et al.*, (2016) estudiaron el perfil completo de ARNm de 5-HT<sub>2</sub>CR en dos áreas corticales arquitectónicamente distintas implicadas en la regulación del estado de ánimo y la toma de decisiones en una cohorte clínicamente bien caracterizada de pacientes, emparejados por edad y sexo, controles no psiquiátricos (sin

tratamiento psiquiátrico) y suicidas deprimidos. Mediante electroforesis capilar de polimorfismos conformacionales monocatenarios (CE-SSCP), corroboraron el perfil de edición de ARNm de 5-HT<sub>2</sub>CR previamente descritos en la corteza prefrontal dorsolateral. La edición del ARNm de 5-HT<sub>2</sub>CR mostró una clara diferencia regional al comparar la corteza prefrontal dorsolateral (BA9) y la corteza cingulada anterior (BA24). En comparación con individuos de control no psiquiátrico, se detectaron alteraciones en los niveles de edición del ARNm de 5-HT<sub>2</sub>CR en ambas áreas corticales de suicidas deprimidos. Se observó un marcado aumento en la edición de 5-HT<sub>2</sub>CR especialmente en la corteza cingulada anterior en los suicidas, lo que implica a esta área cortical en el riesgo de suicidio. Los resultados indican que los cambios específicos de la región en la edición de ARN del ARNm de 5-HT<sub>2</sub>CR y la función deficiente del receptor probablemente contribuyan a la etiología del trastorno depresivo mayor o el suicidio.

## MEDICAMENTOS QUE INDUCEN AL SUICIDIO

Los medicamentos pueden tener efectos secundarios psiquiátricos, independientemente de su indicación terapéutica. En algunos se detectan en fase clínica, como fue el caso del anorexígeno Taranabant y en otros casos, hay que retirarlos del mercado, como ocurrió con el Rimonabant. Actualmente se usan varios tipos de interferón humano recombinante (hIFN) para el tratamiento de la hepatitis crónica tipo C, esclerosis múltiple y el cáncer. Estas citocinas, y especialmente la subtipo  $\alpha$  (hIFN $\alpha$ ), pueden inducir una variedad de efectos secundarios neuropsiquiátricos, incluida la depresión mayor (21-58% de los pacientes), ideación suicida y, raramente, suicidio consumado (Raison *et al.*, 2005). Del mismo modo, la inyección de hIFN $\alpha$  en monos Rhesus también induce un comportamiento depresivo, por lo que puede usarse como un medicamento modelo de inducción al suicidio.

Dada la gravedad de estos cambios conductuales, y a pesar de que sus efectos no hayan sido en muchos casos demostrados, la Administración Norteamericana de Alimentos y Medicamentos (FDA) está emitiendo alertas preventivas generales sobre clases terapéuticas específicas, como los antidepresivos dirigidos a niños, adolescentes y adultos jóvenes con depresión mayor y otros trastornos psiquiátricos.

### MÉTODO *IN VITRO* PARA DETECTAR CONDUCTAS SUICIDAS

Actualmente no existe ningún procedimiento aprobado para detectar la inducción de la depresión y las ideas suicidas, por lo que resultaría muy útil el desarrollo de un procedimiento *in vitro*.

De hecho, la línea celular inmortalizada y proliferativa de neuroblastoma humano SH-SY5Y es una de las líneas celulares más utilizadas en neurociencia como modelo *in vitro* de diferenciación y función neuronal, así como para la investigación en la enfermedad del Parkinson, puesto que las células pertenecientes a esta línea poseen muchas características de las neuronas dopaminérgicas (Ríos *et al.*, 2003). Por ejemplo, expresan las enzimas tirosina hidroxilasa y dopamina-beta-hidroxilasa, así como el transportador de dopamina. Es una sub-línea que fue creada mediante 3 clonaciones a partir de una biopsia de células metastásicas aisladas a partir de la médula ósea de una paciente de 4 años que sufría neuroblastoma. Las células SH-SY5Y diferenciadas con diferentes agentes son un modelo de estudio similar a las neuronas adultas *in vivo*, ya que sus características morfológicas, bioquímicas y electrofisiológicas son similares a neuronas, mientras que las células indiferenciadas SH-SY5Y se comportan en cultivo como neuronas inmaduras. Además, es una herramienta versátil para la transferencia génica en estudios de genómica funcional.

Anteriormente, Cavarec *et al.* (2013) demostraron que en la línea celular de neuroblastoma SH-SY5Y (ver Figura 1), el hIFN $\alpha$  activa específicamente la isoforma ADAR1a y, por lo tanto, modifica el perfil de edición del ARNm de HTR2C. Como este perfil alterado inducido por hIFN $\alpha$  se solapa parcialmente con el observado en el cerebro de las víctimas de suicidio deprimidas, investigaron si podría usarse como una firma para identificar fármacos que induzcan depresión y/o efectos secundarios suicidas.

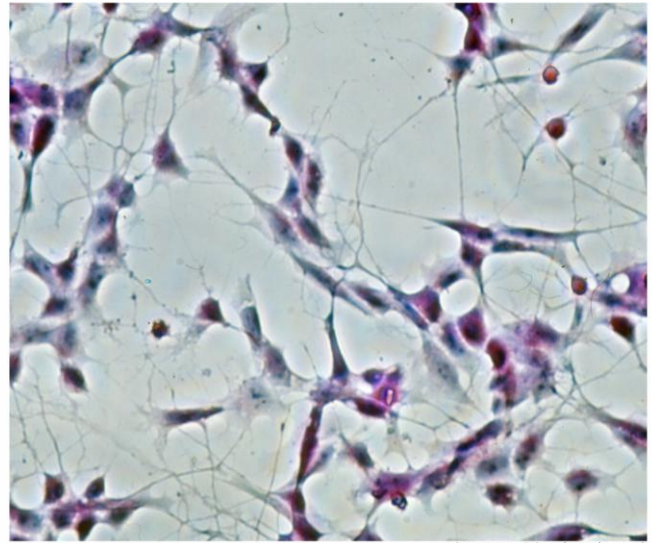


Imagen suministrada por la autoría

**Figura 1.-** Microfotografía de un cultivo diferenciado de células de neuroblastoma humano SH-SY5Y, teñido con hematoxilina y eosina.

Utilizando un ensayo de cribado, realizaron la cuantificación relativa de todas sus 32 isoformas HTR2C. Identificaron una combinación de seis isoformas (A, AB, ABC, AC, C y NE) como representativa de la firma tipo hIFN $\alpha$  y de la posible depresión y/o efectos adversos suicidas. Posteriormente, llevaron a cabo un ensayo ciego para investigar el efecto de 50 medicamentos comercializados (principalmente antidepresivos, antipsicóticos, anticonvulsivos y moléculas antiobesidad) sobre la edición del ARNm de HTR2C, e identificaron a 17 compuestos con un perfil similar al interferón. Por ello, consideran que este nuevo ensayo toxicogenómico puede identificar compuestos con posibles efectos adversos psiquiátricos con un valor predictivo positivo del 90%.

EURL ECVAM revisó la solicitud de evaluación previa del método, denominado comercialmente como EDITOX, considerando suficiente la información aportada para comprender el principio del método de ensayo y su relevancia mecanicista (EURL ECVAM, 2017). A continuación consultó a los miembros de la Red de Evaluación de la Relevancia Reguladora (PARERE) para establecer el uso potencial de EDITOX para propósitos regulatorios. Basándose en los comentarios recibidos de los miembros del PARERE, completó la evaluación de la presentación previa de EDITOX e invitó al solicitante a realizar una petición completa, teniendo en cuenta una serie de cuestiones. En particular, dado que este ensayo está completamente basado

en un modo de acción (la edición de 5-HT<sub>2c</sub>R), se pidió al remitente que proporcionase una revisión de otros posibles modos de acción de las drogas (y productos químicos potencialmente ambientales) con riesgo de causar depresión y/o tendencia suicida, y de los métodos de ensayo *in vitro* (p. ej.: batería de test) que podrían estar disponibles para cubrir potencialmente estos otros modos de acción, destacando su relación con los métodos actualmente disponibles.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Cavarec L., Vincent L., Le Borgne C. et al. *In vitro screening for drug-induced depression and/or suicidal adverse effects: a new toxicogenomic assay based on CE-SSCP analysis of HTR2C mRNA editing in SH-SY5Y cells.* Neurotox Res. 2013,23(1):49-62. DOI: 10.1007/s 12640-012-9324-9.
- EURL ECVAM Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches. 2017. EUR28823 EN
- Raison C.L., Demetrashvili M., Capuron L. et al. *Neuropsychiatric adverse effects of interferon-alpha: recognition and management.* CNS Drugs. 2005,19(2):105-23.
- Ríos J.C., Repetto G., Jos A. et al. *Tribromophenol induces the differentiation of SH-SY5Y human neuroblastoma cells in vitro.* Toxicology in vitro. 2003,17:635-41.
- Weissmann D., van der Laan S., Underwood M.D. et al. *Region-specific alterations of A-to-I RNA editing of serotonin 2c receptor in the cortex of suicides with major depression.* Transl Psychiatry. 2016,30:6(8):e878. DOI: 10.1038/tp.2016.121.

**HÁGASE SOCIO BENEFACTOR  
SU EMPRESA TAMBIÉN PUEDE SER PARTE DE LA SECAL**

**ESTAMOS  
EN EL CENTRO DE  
LA INVESTIGACIÓN  
EN HABLA  
HISPANA**



[www.secal.es](http://www.secal.es)



INSTRUMENTACIÓN E INSTALACIONES CIENTÍFICAS

# Proteja su Investigación de la Contaminación con la Tecnología Clarus™ Peróxido de Hidrógeno Vaporizado

C/. Laguna del Marquesado 14, Nave 1  
28021 MADRID  
Teléfono: 91 710 95 47  
Fax: 91 796 65 52  
E-mail: [steriltech@steriltech.net](mailto:steriltech@steriltech.net)  
[www.steriltech.net](http://www.steriltech.net)



- Totalmente escalable
- Libre de residuos
- Baja Temperatura
- Excelente compatibilidad de materiales



**CLARUS™ Z**  
Especialmente diseñado para salas  
▪ Salas hasta 500 m<sup>3</sup>



**CLARUS™ C**

- SAS Biológicos
- Salas hasta 350 m<sup>3</sup>
- Racks Ventilados
- Aisladores
- Lava-racks



**CLARUS™ L**

- Racks Ventilados
- Aisladores
- Incubadores de CO<sub>2</sub>
- Lava-racks



BMT Iberia, s.l.  
C/. Laguna del Marquesado 14, Nave 1  
28021 MADRID  
Teléfono: 91 7230347  
Fax: 91 5054494  
E-mail: [bmtiberia@steriltech.net](mailto:bmtiberia@steriltech.net)  
[www.bmtiberia.es](http://www.bmtiberia.es)

## Esterilizadores a Vapor STERIVAP HP IL, VAKULAB, UNISTERI



## Avance

**Sandra Barbosa Pérez**

*Serveis Integrats d'Animals de Laboratori (SIAL). Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia. Facultat de Veterinària. UAB*

Las Ciencias del Animal de Laboratorio avanzan a toda marcha, al igual que el resto de aspectos relacionados con la investigación. La adaptación a las nuevas legislaciones influye en las instalaciones y el mantenimiento de los animales, la aparición de nuevas técnicas que proporcionan más datos científicos y de mejor calidad, la necesidad de encontrar tecnologías que faciliten el trabajo en el animalario respetando la seguridad de los operadores... Nuestro objetivo como profesionales de esta ciencia es conseguir que se implementen todos estos cambios respetando al máximo el bienestar de los animales y minimizando la variabilidad experimental para conseguir datos experimentales de la mayor calidad posible.

Un buen programa microbiológico del animalario, independientemente del tipo que sea, desde un animalario convencional a una unidad de gnotobióticos, es de gran importancia para preservar la repetibilidad y la calidad de los resultados.

Las técnicas encaminadas a la detección de agentes infecciosos susceptibles de generar ruido en los resultados experimentales y enfermedad clínica en algunos casos, han experimentado grandes cambios en los últimos años. Hoy en día somos capaces de obtener gran cantidad de información sobre el estado microbiológico de nuestra instalación con más precisión y reduciendo el número de animales empleados exclusivamente para este propósito, lo que supone un gran avance.

En los próximos números indagaremos en la calidad de los programas microbiológicos, y compararemos las nuevas técnicas con las que se utilizaban antaño, así como en cuáles son los agentes infecciosos de importancia especial dependiendo de las diferentes circunstancias que afectan a cada animalario.

PUBLIQUE SUS  
ARTÍCULOS EN  
NUESTRA REVISTA.  
CONTÁCTENOS

[www.secal.es](http://www.secal.es)

# La ética del uso de animales de laboratorio para desarrollar medicamentos para enfermedades asociadas al estilo de vida

**Jesús Martínez Palacio y Edilia Inés Almeida Cordón**  
CIEMAT – Servicio de Animalario

Hoy revisamos un artículo escrito por el Profesor Clive Phillips, del Centro de Bienestar Animal y Ética de la Universidad de Queensland. Podéis encontrar su referencia en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23781939>

El autor presenta este tema como la última expresión del "especismo".

Las personas enferman por las "múltiples adicciones" que permean la sociedad moderna -azúcar, tabaco, alcohol, sal, grasas saturadas...- que se traducen en múltiples enfermedades no transmisibles asociadas al estilo de vida -diabetes, obesidad, enfermedades cardíacas, cáncer...-; y esperan que medicamentos desarrollados utilizando animales de laboratorio vengan a evitar enfermedades humanas.

Sin embargo, mantiene que sería mucho más razonable (y algunas personas ya lo hacen) mejorar el estilo de vida en lugar de buscar soluciones medicamentosas a estos problemas. Seguro que supone una mejora para la población, aunque seguramente tendría otras repercusiones económicas.

Según el autor, las compañías multinacionales controlan cada vez más la producción, transformación y comercialización de los productos alimenticios que nos están causando la dependencia de los animales de laboratorio para producir los medicamentos "asociados".

También tienen un mayor control sobre los gobiernos a través de su importancia para las economías nacionales. Muchas de estas compañías explotan las necesidades corporales en base a conocimientos científicos para inducir el consumo de determinados alimentos no muy saludables.

El costo humano de las enfermedades no transmisibles derivadas de los problemas del estilo de vida está ya bien establecido, pero el costo de los animales es rara vez considerado.

Sólo en 2013, más de 2.000 artículos que describían el uso de ratones o ratas para abordar el problema creciente de la diabetes fueron publicados en revistas científicas. Incluso en una estimación conservadora (50 animales utilizados por estudio y sólo la mitad del trabajo que se hizo terminó siendo publicado) eleva a 200.000 animales el uso de roedores para la investigación en un solo año.

No se puede dudar del progreso que se está haciendo en el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad, pero si una fracción del dinero que se utilizó para estos estudios, fuese dirigida a educar al público acerca de la restricción dietética o el ejercicio físico, la calidad de vida de las personas mejoraría y serían necesarios menos animales de investigación.

Finalmente, el autor reflexiona sobre la justificación ética del uso de estos animales.

Todos aceptamos el uso de animales como vía de curación de enfermedades, pero... ¿está igualmente justificado su uso cuando se trata de enfermedades que tiene un origen "humano" o vinculado a un estilo de vida perfectamente evitable?

*That is the question. ¿Tú qué opinas?*



## Ergonomía del día a día. Cómo elegir correctamente una silla de trabajo

*Esta mañana leía un artículo en una web de Prevención de Riesgos Laborales (PRL) sobre la importancia de seleccionar una buena silla para desarrollar correctamente nuestro trabajo. Se estima que los ciudadanos de los países desarrollados pasamos de media unos 17 años sentados durante toda nuestra vida. Es mucho tiempo para estar en una silla inadecuada, ¿o no? Por ello hoy incidiré y os resumiré los criterios que se presentaban.*

**Jesús Martínez Palacio**  
Titulado Superior en Prevención de Riesgos Laborales

Nuestra profesión no puede considerarse sedentaria. Aunque seguramente muchos de mis colegas responsables de animalarios aleguen que últimamente dedicamos muchas horas a la gestión, el papeleo, los ordenadores... Pero, en cualquier caso, todos nos sentamos durante una parte de nuestra jornada de trabajo.

Según datos de la Agencia Europea para la Salud y la Seguridad en el Trabajo, más de un tercio de los trabajadores sufre dolor de espalda, siendo éste el problema de salud que más gastos supone para los pacientes. Además, estas dolencias son la segunda causa más frecuente de visita al médico, y el tercer motivo para operarse.

El ejercicio físico es fundamental para librarnos de los dolores de espalda, el estrés, las molestias cervicales, etc.

Pero, además, **debemos contar con una silla** adaptada para la actividad que vayamos a desarrollar: no es lo mismo manejar un ordenador, que vigilar una pantalla, escribir unos formularios a mano... En este sentido es difícil dar unas recomendaciones generales "válidas" para todo el mundo. Lo ideal es consultar con vuestros técnicos en PRL para vuestro caso concreto, especialmente en lo relativo a los ajustes de la silla.

Si nos centramos en el momento de **escoger una buena silla de trabajo** (que permita adaptarla a nuestra circunstancia personal), siempre hay unos criterios generales que podemos utilizar:

1. Es fundamental que **la altura del asiento sea variable**; un fallo en esta regulación puede tener impacto no sólo musculoesquelético, sino circulatorio, digestivo...
2. También es importante mirar **el tamaño del asiento**; que tengamos suficiente espacio y que la parte delantera esté inclinada hacia abajo para que el extremo anterior no presione nuestras piernas.
3. El **respaldo** debe ser ajustable y ajustarse a la espalda; si no, podemos generar problemas lumbares. Existen respaldos fijos, vasculantes o sincronizados: los primeros son útiles para jornadas cortas, mientras que los vasculantes han sido diseñados para ser utilizados durante unas cinco horas y los sincronizados para jornadas aún más extensas.
4. La **altura** del respaldo merece ser considerada. Lo ideal es que cubran la totalidad de la espalda y, puestos a pedir, con reposacabezas para dejar descansar a las vértebras (no es normal en laboratorios).
5. Aunque no es común (se ve más en despachos) debería incorporar unos **apoyabrazos** regulables. Ayudan a levantarse, eliminan tensiones en los brazos y favorecen una postura adecuada.
6. La base debe contar con **cinco puntos de apoyo y llevar ruedas**. En algunos casos los materiales de las ruedas acumulan suciedad o dañan los suelos. ¡También hay que fijarse en esto!
7. Finalmente, en relación al material de la silla o tapizado, buscaremos **materiales duraderos, fáciles de limpiar (que aguanten desinfectantes) y de colores sufridos**. Yo os recomendaría materiales plásticos oscuros, no son bonitos, pero a la larga se agradece.

Bueno, ahora **levantaos y mirad vuestra silla. ¿Podemos mejorarla?**

Congress

**ESLAV - ECLAM  
AAALAC - SECAL  
Conference 2018**

Improving quality and translation  
of experimental animal studies

15 - 16 October 2018,  
Barcelona Spain



eclam

European College of  
Laboratory Animal Medicine





## Amigos animales

**Daniel del Olmo Fernández**  
*Centro de Investigaciones Biológicas, Madrid*

Bueno, supongo que lo primero de todo es presentarme. Mi nombre es Daniel del Olmo, trabajo como cuidador y técnico en el animalario del Centro de Investigaciones Biológicas en Madrid, y es la primera vez que participo en esta revista como autor y encargado de la sección *"Al Cuidado"*. Espero que como tal, pueda estar a la altura de mi predecesora y continuar haciendo de ésta, una sección de interés, para vosotros "cuidadores"; para otros compañeros como "técnicos e investigadores" (por la parte que les toca); y tal vez para otras personas que estén interesadas en lo que hacemos en este mundillo, en sus aplicaciones, en su valor y, en definitiva, en que se conozca mejor nuestra labor y su importancia.

En segundo lugar, quiero dar las gracias a Hernán Serna y a Lara Sedó, por confiar en mí y darme la oportunidad de tener el honor de encargarme de este pedacito de la revista que tan poco importante podría parecer, pero que contrariamente es tan necesario para conocer un eslabón de la investigación sin el que todo avance que dependa de él no sería posible.

Como primer artículo, me gustaría hablar de mi experiencia como trabajador en este animalario, que es el único en el que he tenido la oportunidad de trabajar, y del que estoy contentísimo de formar parte. De mi experiencia, de los compañeros, de los animales... y de tantas cosas que se me van ocurriendo.

¿Por dónde empezar? Supongo que desde el principio será lo mejor.

Mi carrera como cuidador comenzó un lunes 9 de junio de 2008. Yo venía de trabajar en Londres en un laboratorio de análisis microbiológico de alimentos, el viernes anterior. Es decir, que apenas tuve un fin de semana para hacerme a la idea de que iba a empezar una carrera laboral que duraría hasta el día de hoy, y

quién sabe por cuánto más. Yo llegaba aquí sin saber lo que era un animalario, creo que como muchos de mis compañeros de profesión, ya que esto no es algo que te enseñen en ninguna formación universitaria o en Formación Profesional, al menos que yo supiese. Sabía que iba a trabajar con ratones y, ocasionalmente, con conejos, hámster y ratas, a lo sumo.

Desde que entré, la cosa me enganchó; tal vez porque siempre quise trabajar con animales, ya que soy un amante de los mismos y de la naturaleza en general. A día de hoy, tal vez gracias a este trabajo, la valoro mucho más y pienso que debemos hacer lo que esté en nuestra mano para preservarla, respetarla y venerarla, ya que es gracias a ella, que hemos llegado hasta donde nos encontramos hoy. Como decía, la cosa me enganchó desde el principio. Yo no había cogido un ratón en mi vida, los había visto en tiendas e incluso en mi jardín y, a excepción de una triste experiencia de la que no hablaré aquí, jamás había tocado un ratón vivo.

Me sorprendió lo curiosos que son, lo limpios, cuidadosos (a veces esto puede no ser una regla intocable), lo "humanos" que pueden llegar a parecer sus hábitos. Si nos paramos a pensarlo, no son tan diferentes a nosotros; de otra manera, ¿por qué estaríamos usándolos en el 99% de los experimentos en investigación biomédica? Supongo que hay muchas ventajas en usar ratones y no cerdos por ejemplo (que se parecen mucho más a nosotros). La primera podría ser su tasa de reproducción; si tuviéramos que esperar a reproducir animales de especies como el cerdo, los experimentos se eternizarían. Y otras ventajas serían su tamaño, manejabilidad y similitud en la forma de expresar enfermedades; ya que gran parte de los genes implicados en las enfermedades humanas están presentes en los ratones, lo que les convierte en un modelo ideal para investigación (para su desgracia, pero para nuestra tan necesitada fortuna).

Como iba contando, aquí encontré un mundo nuevo y desconocido: nuevos compañeros de los que aprender y con los que empezar el camino (ya que éramos varios los que nos habíamos incorporado hacía poco), conejos con nombres tal vez poco acertados (Romeo y Julieta), de los que aprendí que en este trabajo puede ser muy natural encariñarse con ciertos animales, pero que inevitablemente nos hará llevarnos un golpazo de bruces dado el poco tiempo que duran los experimentos y, por tanto, su esperanza de vida. Pero supongo que eso es algo que aprendes con la experiencia. Desde aquel momento, ni mis compañeros ni yo hemos tenido un animal con un nombre propio

(sí alguno con mote del tipo "punky" por ejemplo, por la forma de cresta con la que les crecía el pelo en la cabeza a algún ratón en la "sala 14").

Estas y muchas otras experiencias me han hecho aprender a lo largo de todos estos años, que estos animales aunque no debamos encariñarnos con ellos son lo más importante que tenemos, y nosotros en su caso somos lo más importante de lo que ellos pueden depender; ¡somos sus "cuidadores"! En honor al título de esta sección, quiero detenerme para recordar que como cuidadores, de lo que más tenemos que preocuparnos es de eso: del cuidado; de que los animales estén bien atendidos; que dispongan de comida y agua; que tengan los cambios de cubeta necesarios; que dispongan de enriquecimiento variado (¡importantísimo!, con papel y cartón interior que sobra de los sacos de pienso, ya tenemos una combinación que es fácil, barata y a los animales les encanta - ver Figura 1), y algo que en mi opinión es clave: que llegado un momento crítico seamos empáticos. Si un animal necesita ser atendido para darle un "fin de procedimiento" avisemos a la persona competente o responsable del animal, y demos ese adiós que tanto nos entristece, lo más rápido y humanamente posible, no sin antes agradecerle el servicio que nos ha prestado.



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 1.**-Enriquecimiento ambiental a disposición de los animales. (A) Se aprecia una cubeta con enriquecimiento variado de una pareja con crías. (B) Detalle del nido hecho de papel higiénico y papel interior de saco de pienso, ambos previamente esterilizados en autoclave. Fotografías cedidas por Francisco Casado Robledillo.

Hasta aquí quería llegar en mi primer artículo. A grandes rasgos darne a conocer y que sepáis mis inquietudes como cuidador. Si tengo la oportunidad, seguiré hablando de este y muchos otros temas, pero no quiero el protagonismo. Os animo a que compartáis vuestras experiencias y vuestras inquietudes, que os pongáis en contacto conmigo y me digáis que también queréis participar en la sección como autores. Al fin y al cabo, ¡es para todos nosotros! De esta manera, podremos aprender cosas de

# CUIDADO AL CUIDADO

otros cuidadores y de sus vivencias para hacer de esta sección lo que como responsable entiendo que debe ser, un apartado que aporte ideas para mejorar nuestra experiencia en el animalario y, en definitiva, la investigación.

Siendo mi primer artículo quería dedicar unas líneas para agradecimientos:

Gracias a mis responsables, Manolo, Tomás y Pablo por hacer de este animalario un sitio en el que trabajar a gusto. Gracias por ser abiertos y escuchar nuestras inquietudes. Gracias a mis compañeros que me han enseñado tanto y de los que espero no dejar de aprender; a los más antiguos, Esther, Marta, Héster, Carlos, Olivia, Andrés, María; a los no tan antiguos, Paco y Pablo; y a nuestras nuevas chicas, Arantxa y Carolina.

No quiero dejar de agradecer a los usuarios del animalario, una lista casi interminable de profesionales con los que tengo el honor de colaborar. Una mención especial para Lucía, por ser la que más nos entiende y por ser nuestra favorita.

También daros las gracias a vosotros los lectores, a los que espero no haber aburrido sino al contrario, haberos despertado cierto interés en que esta sección siga siendo activa y entretenida.

Y, por último, gracias Leti y Vera, por estar cada día a mi lado. Sois mi vida.

Gracias y hasta siempre.



**MÁS DE 400 SOCIOS  
RELACIONADOS CON EL SECTOR  
DE LOS ANIMALARIOS.**

**ANUNCIE  
EN ANIMALES  
DE LABORATORIO**

**LA REVISTA DE  
LA SECAL**

[publicidad.revista@secal.es](mailto:publicidad.revista@secal.es)

**SECAL** sociedad española  
para las ciencias  
del animal de laboratorio

# aco

An **Allentown** Company

ACO Allentown es el nuevo nombre de un equipo profesional líder y con décadas de experiencia en el diseño, implantación y mantenimiento de soluciones de lavado de equipos utilizados en los centros de investigación biomédica. Sodispan Research distribuye en España todos los sistemas ACO Allentown.



## Lavabiberones



## Lavajaulas



## Lavaracks

# Actualidad e instalaciones de los servicios de transgénesis en ratón

**María Herrero<sup>1</sup>, Lucía Méndez<sup>1</sup>, Ignacio García-Tuñón<sup>2</sup>, Manuel Sánchez<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Servicio de Transgénesis, plataforma Nucleus. Universidad de Salamanca

<sup>2</sup> Instituto Biosanitario de Salamanca (IBSAL)

## INTRODUCCIÓN

Cuando todo hacía pensar hace unos años que la microinyección de material genético en cigotos había tocado techo, la tecnología CRISPR/Cas9 ha dado la vuelta por completo a este panorama. Las nuevas técnicas de edición del genoma han disparado la demanda de solicitudes de microinyección en ratón en los Servicios de Transgénesis (STGs) de los principales institutos de investigación y universidades. Esto se debe a la increíble eficiencia de las mismas, que parecen no tener límite en sus posibles aplicaciones.

Esto mismo y otra serie de tareas que se realizan de forma habitual en los STGs soportan y justifican la existencia y creación de este tipo de unidades o servicios en los centros de investigación biomédica de nuestro entorno. Vamos a tratar de describir de forma genérica las principales consideraciones a tener en cuenta en el diseño y la logística de este tipo de instalaciones.

## CONSIDERACIONES GENERALES

De manera reduccionista podríamos decir que el objetivo específico, pero no único, de un STG, es la generación de *novo* de ratones mutantes. Para ello se requieren, como veremos a continuación, personal cualificado e instalaciones específicas. Habitualmente, estas instalaciones se hayan inmersas y en coordinación con las instalaciones de los distintos animalarios.

En general, el personal de los STGs realiza una gran cantidad de procesos relacionados con la reproducción y el control reproductivo, lo que a su vez implica un conocimiento profundo de los sistemas de anestesia y analgesia, de la anatomía y fisiología del sistema reproductivo del ratón y de su desarrollo embrionario. En definitiva, este personal está altamente cualificado y maneja una gran variedad de técnicas, tanto quirúrgicas como celulares y moleculares, motivo por el que el STG realizará otros muchos

encargos que no sólo tienen que ver con la generación de nuevos ratones mutantes, sino con su control reproductivo, genotipado, criopreservación, fenotipado, etc. En conjunto, esto hace que muchos de los centros de investigación biomédica de nuestro entorno cuenten con Servicios de Experimentación Animal (SEA) y STGs, en los que se comparten personal, equipos y trabajan aplicando no sólo los principios de las 3Rs, sino también los que denominamos como principios de las 3Cs (Colaboración, Coordinación y Complicidad). La simbiosis y armonía entre los SEAs y los STGs llevan a una optimización de los recursos, abaratamiento de costes, éxito en los servicios prestados y, por ende, esto desembocará en una investigación de calidad, una alta satisfacción de los usuarios y, lo que es más importante, un mayor bienestar animal.

## INSTALACIONES DE UN SERVICIO DE TRANSGÉNESIS

Como hemos comentado, los SEAs y STGs trabajan en íntima colaboración, lo que implica compartir varias instalaciones para lograr un mayor beneficio en los costes de los servicios que realizan. En nuestro caso, en la Universidad de Salamanca, ambos servicios cuentan con instalaciones comunes tanto dentro de la zona SPF como en el área técnica, donde se comparten distintos equipos relacionados con la microscopía, cultivos celulares, criopreservación, medida de concentración de ácidos nucleicos o de concentración de medios, entre otros. Por otro lado, existen una serie de equipos técnicos que están más asociados a la transgénesis como son las estaciones de microinyección, microforjas y estiradores de pipetas.

### Espacios de trabajo. Consideraciones constructivas, técnicas e instrumentales

#### - Ubicación

Los STGs trabajan en distintos espacios o áreas y clásicamente,

el área que se dedicaba a la microinyección era un espacio que estaba diseñado dentro de las zonas SPF o de barrera de los distintos animalarios. Sin embargo, hoy en día son cada vez más los centros que la sitúan fuera de esta zona, en áreas anexas, principalmente por dos factores:

### a) Comodidad del personal

La obtención y micromanipulación de los embriones implican un gran número de horas de trabajo que por cuestiones obvias se hacen poco confortables vistiendo el atuendo de trabajo de la zona SPF, áreas que no suelen contar con baños ni zonas de descanso.

### b) Material empleado

Son muchas las técnicas que se llevan a cabo y que requieren de material de gran y pequeña envergadura, y además de gran cantidad de medios que hacen difícil su traslado a la zona SPF, como puede ser el nitrógeno líquido. Adecuar estas zonas dedicadas a la estabulación de los animales para llevar a cabo estas tareas supondría una pérdida de recursos que bien podrían dedicarse a la adquisición de otros bienes.

### - Áreas de trabajo ideales

Las instalaciones de un STG deben de situarse lo más anexas posibles al animalario e idealmente contarían con las siguientes áreas/espacios e instrumental técnico:

#### a) Área de disección

Debe de ser una superficie reservada para la eutanasia de las hembras donadoras de embriones u ovocitos (ver Figura 1). Este espacio estaría dotado de medios para almacenar el material de cirugía, equipos para su esterilización, una fuente de luz fría, un estereomicroscopio, una placa calefactora y mecheros de gas. Las principales tareas que habitualmente se realizarán con este material biológico son la microinyección con embriones y la fertilización *in vitro* (FIV) o la inyección intracitoplasmática de esperma (ICSI) con células germinales. El estereomicroscopio es la pieza clave imprescindible para la obtención de todas estas muestras y debe de contar, al menos, con el sistema de luz transmitida.



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 1.-** Área en la que se realiza la eutanasia de los animales y la disección de sus tejidos reproductivos. Cuenta con una fuente de luz fría, termoplaca y estereomicroscopio.

#### b) Área de elaboración de herramientas

Esta zona deberá contar con el instrumental para la elaboración de las pipetas de inyección, sujeción y de manipulación de embriones (ver Figura 2). El instrumento clave en la misma es el estirador de capilares, aparato que mediante la combinación de cuatro variables (calor, fuerza de estiramiento, velocidad y tiempo) permite la generación de distintos tipos de agujas de inyección (de material genético, de esperma, de espermátides redondas...). La microforja permite además generar agujas para sujetar los embriones u ovocitos, aunque éstas se puedan adquirir por un precio asequible en diferentes casas comerciales ya que el número a utilizar es mucho menor que el de las agujas de inyección. Los mecheros comerciales de gas permiten estirar de forma muy sencilla capilares de cristal para la manipulación y traslado de los embriones y células germinales de un lugar a otro.



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 2.-** Área en la que se realizan los capilares de manipulación de embriones, agujas de sujeción y de inyección. Cuenta con estirador de capilares, microforja y mechero de gas.

## c) Área de cultivo celular y elaboración de medios

Idealmente esta área debe mantenerse aislada en una habitación con sistema de ventilación con presión positiva. La entrada a esta sala se debe hacer con batas, guantes y calzas de uso exclusivo para el trabajo en este tipo de sala.

Este espacio debe contar con varios instrumentos claves (ver Figura 3), entre ellos una cabina de flujo laminar de seguridad biológica tipo II. Bajo la atmósfera de trabajo creado por la cabina de flujo laminar se elaboran los distintos medios de cultivo y lavado de los distintos estadios pre-implantacionales del embrión, medios de cultivo de células madre embrionarias (ES), medios de congelación de células, de congelación de embriones, de congelación de espermatozoides, etc. La manipulación de células ES se realizará siempre bajo esta atmósfera estéril. La cabina debe de estar conectada a un sistema centralizado de vacío y poseer lámpara de luz ultravioleta para su esterilización. Este equipo debe estar controlado anualmente por un técnico habilitado que garantice el buen funcionamiento de sus filtros, renovación de aire, etc.



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 3.-** Área donde se realiza el cultivo de células y embriones. Cuenta con una cabina de flujo laminar de seguridad biológica IIA y un incubador de CO<sub>2</sub>.

Otro de los instrumentos clave en este espacio es el incubador de CO<sub>2</sub>, en el que se realiza el cultivo de las distintas

muestras biológicas y los procesos de FIV. Este aparato debe colocarse lo más cerca posible de la cabina de flujo laminar para minimizar el riesgo de contaminaciones en los cultivos.

Por último, este espacio debe contar con instrumentos de centrifugado y contenedores de contención y recogida de material biológico.

## d) Área de biología molecular

Esta debe ser una superficie reservada para realizar los procesos que involucran el manejo del material genético (ver Figura 4). Estos procesos básicamente suelen ser la extracción de DNA genómico, el genotipado por PCR, el manejo de vectores (plásmidos, BACs y YACs) y manejo/transcripción de RNA, construcción del DNA recombinante, etc. El aparataje con el que debemos contar es opcional ya que varios instrumentos, como el termociclador, pueden compartirse con otros servicios, aunque es aconsejable contar con una fuente y cubetas de electroforesis, un microondas, un baño de temperatura variable, una microcentrifuga, un espectrofotómetro, un frigorífico y un congelador. Cabe destacar la necesidad de crear dos espacios bien diferenciados, un espacio pre-PCR y otro post-PCR. De esta forma, en el primero se realizan las extracciones de DNA genómico y las reacciones de PCR para el genotipado de animales. El espacio post-PCR se utiliza para la manipulación de plásmidos, BACs, YACs y productos amplificados por PCR. De esta forma se evita cualquier contaminación del material a genotipar y amplificar, y así los falsos positivos.



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 4.-** Área de biología molecular. Cuenta con micropipetas, microcentrifuga y fuente de electroforesis, entre otros instrumentos.

Este espacio y su instrumental puede hallarse en el espacio asignado al STG, si es un espacio amplio y compartimentalizado, o para optimizar recursos también puede ser compartido con otros servicios y estar ubicado en otra zona del instituto.

#### e) Área de microinyección

Es la zona que contiene el instrumental más específico del servicio, la estación de microinyección (ver Figura 5). Debe ubicarse en una zona del laboratorio con poco tránsito de personal y ventilada. Es muy importante contar con un puesto de trabajo cómodo que permita una postura ergonómica, ya que el número de horas que el personal técnico pasa en la estación es muy elevado. La estación está formada por una mesa antivibratoria y un microscopio invertido con dos brazos articulados gobernados por micromanipuladores. En su versión más completa y para poder realizar la técnica de ICSI, debemos contar con un generador de microimpulsos tipo piezo-drill. La estación es indispensable para la inyección de DNA recombinante en cigotos y generación de ratones transgénicos, inyección de RNA/DNA en cigotos y generación de mutantes específicos vía nucleasas tipo CRISPR, inyección de células ES en mórula/blasto, etc.



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 5.-** Área en la que se realiza el proceso de microinyección de embriones e ICSI. Cuenta con una estación de microinyección compuesta por mesa antivibratoria de gas, micromanipuladores, microscopio invertido y piezo-drill.

#### f) Área de transferencia embrionaria

Este espacio está situado dentro del animalario, en zona SPF o de barrera. Esta área y su instrumental son compartidos con el personal técnico del animalario. Comprende un espacio aislado dentro de la zona SPF y es donde se realiza la

transferencia de los embriones que proceden de la micromanipulación, embriones para rederivar de animales de otros centros o proveedores, embriones descongelados o bien procedentes de técnicas de reproducción asistida.

El instrumental mínimo requerido para realizar la técnica de transferencia embrionaria es estereomicroscopio de luz transmitida, estereomicroscopio con luz fría incidente, manta calefactora, incubador de CO<sub>2</sub> y equipo anestésico.

#### g) Área de criopreservación

La gran eficiencia de la tecnología CRISPR para generar nuevos ratones mutantes ha provocado también que aumenten las solicitudes de criopreservación de los mismos. Dadas las capacidades técnicas que posee el personal de los STGs, en muchas ocasiones también recae en ellos este tipo de servicios. El sacrificio y obtención de embriones para criopreservar se realiza en el área de disección, en la que se realiza también el proceso de congelación. Una vez congelados, éstos se trasladan a tanques de nitrógeno líquido (NL) ubicados en un área ventilada y que, por lo general, se comparte con otros muchos servicios del instituto (ver Figura 6). Lo ideal es almacenar las muestras en dos tanques individuales en espacios diferentes para minimizar el riesgo de pérdida de una determinada línea en caso de accidente.



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 6a.-** Área de criopreservación. En ella se observan los tanques de NL en los que se almacenan las muestras por duplicado.

#### h) Área administrativa, de estudio y almacén

Tanto el personal técnico como la dirección del STG debe contar con un área administrativa y de estudio, y su ubicación ideal es fuera de los espacios de trabajo. Por otro lado, se debe

contar con una zona de almacén de productos también separada del área de trabajo.

## - Protocolización del trabajo

Las metodologías usadas en estos centros requieren el uso de protocolos diversos y sumamente específicos que deben estar sujetos a revisión frecuente y accesibles al personal. Factores como la separación de áreas, asepsia, desinfección de áreas y equipos, uso de vestuario específico, equipos de protección individual (EPIS), identificación de muestras y seguridad, deben de estar convenientemente contemplados en dichos protocolos, siendo los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNTs) elementos fundamentales en la operatividad y mantenimiento de los objetivos de calidad de nuestro trabajo.

## PUNTOS CRÍTICOS

### Control de equipos

Para el éxito en las tareas desarrolladas existen puntos críticos que deben estar en continua vigilancia. Son aquellos materiales y equipamiento de cuyo control de calidad depende el éxito del servicio. Para ello se establece un sistema de alarmas que manda información en tiempo real vía SMS cuando se sobrepasan los umbrales de funcionamiento óptimo determinados por la dirección del STG. En nuestro caso, los equipos críticos que cuentan con este sistema de alarma son:

#### - El incubador de CO<sub>2</sub>

En él se desarrollan los embriones en una atmósfera húmeda con 5% CO<sub>2</sub> y 37°C de temperatura. El mantenimiento de estos parámetros es clave para la viabilidad de los mismos.

#### - Frigoríficos y congeladores

En éstos se mantienen los reactivos de los distintos procesos en condiciones óptimas. Su variación influirá en el éxito de cada técnica.

#### - Tanques de nitrógeno líquido

Tanto embriones como células germinales criopreservadas se mantienen en ellos. La resucitación de la línea depende de forma esencial de su mantenimiento en nitrógeno líquido. En nuestro servicio, el sistema de alarma rellena de forma automática el tanque en caso de encontrarse con niveles bajos y manda alerta vía SMS (ver Figura 7).



Imagen suministrada por la autoría

**Figura 7.-** Área de criopreservación. Se observan el sistema de auto-rellenado de los tanques de NL en caso de bajada de los niveles del mismo y el sistema de alarmas SMS de detección de niveles bajos de NL.

### Seguridad del personal

Para el mantenimiento de los estándares de seguridad del personal en aquellas áreas en las que se encuentran los tanques de nitrógeno o los incubadores, éstas deben contar con detectores del nivel de oxígeno y de CO<sub>2</sub> que avisen acústicamente de niveles anómalos de ambos parámetros y potencialmente peligrosos para los operadores.

Por el mismo motivo, todas las estancias del STG deben contar con detectores de humo. Por defecto éstos se hallan ya de forma obligatoria en todas las áreas de trabajo y están centralizados en una o varias alarmas acústicas del edificio.

### BIBLIOGRAFÍA

- Hogan B., Beddington R., Costantini F. *et al. Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual.* Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1986.
- Howard B., Nevalainen T., and Perretta G. (Eds) *The COST Manual of Laboratory Animal Care and Use: Refinement, Reduction, and Research.* CRC Press. 2010.
- Pease S. and Saunders T.L. (Eds) *Advanced Protocols for Animal Transgenesis. An ISTT Manual.* Springer Protocols Handbooks. 2011.

# Todo lo que necesita saber

[www.secal.es](http://www.secal.es)



Anuncie en ANIMALES DE LABORATORIO, la revista en habla hispana más importante del sector y posicione sus productos directamente en manos de los animalarios.

**SECAL** sociedad española  
para las ciencias  
del animal de laboratorio

Foto Shutterstock



## Aurora M<sup>a</sup> Solares García

### Animalaria, Formación y Gestión S.L.

*Socio Benefactor*

#### **Información de Contacto:**

+34.699.92.19.30

animalaria@animalaria.org

www.animalaria.org

#### ***¿Desde cuándo son socios benefactores de la SECAL y qué opinión os deja nuestro colectivo?***

No recuerdo exactamente desde qué año somos socios benefactores, pero sería poco tiempo después de la constitución de la empresa en 2006, a raíz del cambio de legislación de 2005.

Para nosotros, este sector ha sido desde siempre nuestro colectivo, ya que procedemos del mismo, realizando en paralelo otras actividades relacionadas con la investigación animal y las Ciencias del Animal de Laboratorio.

La opinión sobre el mismo es muy buena porque, siendo un colectivo que puede parecer en principio bastante reducido, su repercusión en la investigación es muy grande, ya que de él depende el trabajo de todos los investigadores que necesitan trabajar temporal o definitivamente con animales, lo que hace que el sector se amplifique por varios miles de personas.

Por otro lado, el que "el núcleo central" de las personas relacionadas con las Ciencias del Animal de Laboratorio no sea demasiado grande y se englobe en SECAL, hace que las relaciones interpersonales entre empresa y usuarios sean más sencillas y cercanas.

#### ***¿Por qué creéis que es importante desde el rol de empresario ayudar a la SECAL?***

Las sociedades científicas como SECAL no tienen carácter lucrativo, lo que hace que tengan una dificultad añadida para generar recursos, recursos que luego son utilizados para la difusión de las Ciencias del Animal de Laboratorio, por lo que el papel de las empresas es revertir parte de los beneficios generados desde el sector hacia el propio sector y en este caso, es SECAL la que lo representa en España.

Creemos que la ayuda de las empresas, siendo socios benefactores o participando en los congresos, es probablemente imprescindible para el buen funcionamiento de la Sociedad.

#### ***¿Cómo contribuyen sus productos o servicios en el refinamiento y mejora del uso del animal de laboratorio?***

Nuestra empresa trabaja en varios aspectos relacionados con la utilización de los animales en la investigación, bien sea como asesores en salud y bienestar animal o con el diseño de animalarios, aunque principalmente nos dedicamos a la formación del personal que va a trabajar con los animales.

Es por ello que entendemos que una formación de calidad es imprescindible para que el usuario de animales de laboratorio pueda ejercer sus labores con responsabilidad y conocimiento.



### José Manuel Sánchez Almeneiro

#### Colegio Oficial de Veterinarios de Cádiz

Socio Benefactor

#### Información de Contacto:

cadiz@colvet.es

#### ¿Desde cuándo son socios benefactores de la SECAL y qué opinión os deja nuestro colectivo?

Somos socios de SECAL desde el año 2014. Consideramos que es un colectivo necesario en el avance de la búsqueda en la mejora del bienestar animal y humano, a través de la investigación.

#### ¿Por qué creéis que es importante desde el rol de empresario ayudar a la SECAL?

Porque como sucede en todos los proyectos de investigación es necesario el apoyo tanto mediático como financiero para lograr los objetivos en los diferentes campos de investigación.

#### ¿Cómo contribuyen sus productos o servicios en el refinamiento y mejora del uso del animal de laboratorio?

Nuestro colectivo es fundamental al ser los garantes de la salud y sanidad animal. Los veterinarios.



### David Ayensa Pérez

#### Granja San Bernardo

Socio Benefactor

#### Información de Contacto:

+34.948.85.01.25 / +34.666.41.73.49

david@granjasanbernardo.com

#### ¿Desde cuándo son socios benefactores de la SECAL y qué opinión os deja nuestro colectivo?

Somos socios de SECAL desde su fundación. El colectivo ha crecido desde su inicio y sobre todo ha evolucionado mucho. La incorporación de una nueva generación ha aportado un aire fresco que se hace palpable en muchos aspectos, por ejemplo, en la revista de la SECAL.

#### ¿Por qué creéis que es importante desde el rol de empresario ayudar a la SECAL?

## Entrevista

Porque la SECAL somos todos, no solamente el investigador o el técnico de laboratorio. Todos los que formamos parte de alguna manera de la cadena de investigación, desde la cría del animal, el que diseña los equipos, el técnico que los usa, el que interpreta los resultados, el investigador que decide sobre un proyecto... tenemos la misma importancia o aportación a la investigación, porque uno sin el otro no podría llevar a término su trabajo. Nos necesitamos y podemos ser de gran ayuda unos a otros.

### **¿Cómo contribuyen sus productos o servicios en el refinamiento y mejora del uso del animal de laboratorio?**

El poder dar unas garantías sanitarias como las que ofrecemos evita errores en los ensayos, y con ello se favorece el menor uso de animales de laboratorio.

Previamente a los ensayos también aportamos información sobre los animales que a los investigadores les resulta de gran validez para poder diseñar los experimentos. Cada vez son más los que se apoyan en nosotros para tomar decisiones sobre los animales a utilizar.



**Marta Acilu** (Directora)

**NorayBio**

Socio Benefactor

### **Información de Contacto:**

madoz@noraybio.com

### **¿Desde cuándo son socios benefactores de la SECAL y qué opinión os deja nuestro colectivo?**

NorayBio es socio de SECAL desde hace más de 10 años. Siendo nuestro principal mercado nos parece imprescindible ser parte de SECAL con nuestro apoyo económico. SECAL ha sido siempre una gran compañía, estando con nosotros tanto en la participación en las ferias y jornadas organizadas por ellos, como en el apoyo en los seminarios organizados por nosotros con sello SECAL.

### **¿Por qué creéis que es importante desde el rol de empresario ayudar a la SECAL?**

Cualquier labor debe mantenerse en continuo desarrollo, y más aún si nos encontramos en un ámbito científico, en el que la innovación y la mejora son el pan nuestro de cada día. SECAL centraliza esa información, nos da un punto de encuentro con nuestros potenciales clientes y, además, nos ayuda a mejorar en nuestros desarrollos, con el objetivo de, conjuntamente, conseguir que el trabajo en ciencias del animal de laboratorio sea cada día mejor. En nuestro caso, por ejemplo, gracias a SECAL hemos podido hacer llegar las últimas tecnologías para un trabajo más eficiente por parte de los animalarios, a través de los seminarios que hemos organizado y la asistencia a los congresos.

### **¿Cómo contribuyen sus productos o servicios en el refinamiento y mejora del uso del animal de laboratorio?**

En NorayBio creemos que el software es un pilar fundamental de la investigación en general, por la gran cantidad de datos que se generan y la necesidad de gestionarlos eficientemente. En el caso de la investigación con animales de laboratorio, se añade un componente más, por la necesidad de minimizar el uso y gestionarlo adecuadamente, cuestión que AniBio prioriza como clave para su éxito entre los usuarios.



## David Mayo López

### IDEXX BIORESEARCH

*Socio Benefactor*

#### Información de Contacto:

+34.662.13.79.46, david-mayo@idexx.com

IDEXXBioResearch-Europe@idexx.com

#### **¿Desde cuándo son socios benefactores de la SECAL y qué opinión os deja nuestro colectivo?**

Somos socios desde hace un año y hasta la fecha estamos muy contentos de serlo. Por suerte he trabajado en el sector durante casi 8 años (en empresas que ya eran socias de SECAL), y a la hora de decidir sobre si merecía la pena o no, no tuve ninguna duda que ser parte de este colectivo es importante y que aporta grandes beneficios a ambas partes.

#### **¿Por qué creéis que es importante desde el rol de empresario ayudar a la SECAL?**

El empresario se beneficia mucho siendo parte de la SECAL, eso no cabe la menor duda, pero ésta a su vez se enriquece por la variedad de opiniones, representaciones e influencias positivas

de las distintas casas comerciales que forman parte de este colectivo. No se trata de lo que aporta un solo empresario, sino de lo que podemos aportar entre todos, con nuestros conocimientos del mercado y sus tendencias, tanto a nivel nacional como internacional.

#### **¿Cómo contribuyen sus productos o servicios en el refinamiento y mejora del uso del animal de laboratorio?**

La investigación de calidad se obtiene tras la combinación de innovación con esfuerzos por mejorar el bienestar de los animales usados en procedimientos científicos. **IDEXX BioResearch** invierte algo más del 15% de su facturación en investigación y desarrollo y fue la primera empresa que lanzó al mercado un sistema de control sanitario que cumplía de verdad con el principio de las 3Rs:

- **Reemplazar:** Ofrecemos analíticas del medio como alternativa a ensayos al propio animal. También aseguramos la fiabilidad de la investigación de líneas celulares.
- **Reducir:** Tests de cuarentena directos sin necesidad de centinelas. Desarrollo de ensayos y pruebas que no requieren de sacrificios, necropsias, sangrado terminal o centinelas.
- **Refinar:** Serologías completas con una sola gota de sangre. Minimizamos el riesgo de infecciones como resultado de no analizar material biológico, y también minimizar el estrés innecesario a la hora de coger muestras o transportar animales vivos.





Powering your research development



## Profesionales al servicio de la investigación

### Servicios integrales para Animalarios

Externalización de servicios de Animalarios

Formación de personal

Diseño de Instalaciones

Alquiler y gestión de Instalaciones

Consultoría y Asesoramiento



[www.vivotecnia-ms.com](http://www.vivotecnia-ms.com)



# The Weight is Over.

No longer do you need to spend your time conditioning research models. There is now an immediate solution - Preconditioning Services from Charles River. Whether preparation for your study requires feeding special diets, aging of animals, phenotypic evaluations, or surgical manipulations, Charles River can provide you with animals preconditioned to your parameters and ready for use when they enter your facility.  
For more information, please contact us at [services@eu.crl.com](mailto:services@eu.crl.com)



## Positive Discovery

Welcome to a world in which every research model is designed to enhance a life – a world in which animal care is of paramount importance and our customers are at the heart of everything we do at Envigo.

Working together with our customers, Envigo is creating the foundations to a world in which human lives are improved and scientific knowledge is advanced on a daily basis.

Discover your own positive outcomes at Envigo today.

[envigo.com](http://envigo.com)

