



# Aplicación de investigación ALZET

## *Modelos de ratones humanizados*

El ratón desnudo y el ratón inmunodeficiente combinado grave (SCID) se han utilizado tradicionalmente como receptores de células o tejidos humanos porque carecen de inmunidad del huésped y aceptan fácilmente células heterólogas. La introducción del ratón diabético no obeso (NOD)/SCID condujo al desarrollo de cepas altamente inmunodeficientes, capaces de injertar células y tejidos humanos de manera más eficiente, que son más apropiadas para generar modelos de ratón humanizados.

El ratón humanizado, un ratón portador de genes, células, tejidos y/u órganos humanos funcionales, es ahora una poderosa herramienta de investigación para el *en vivo* estudio de la biología humana y la enfermedad. Los modelos de ratón humanizados permiten una mejor comprensión de las vías de la enfermedad y, en última instancia, mejoran el valor traslacional de los estudios preclínicos. Se han desarrollado varios modelos de ratones humanizados para el estudio de enfermedades infecciosas, autoinmunidad, trasplantes, desarrollo de vacunas, inmunoterapia contra el cáncer, medicina regenerativa, desarrollo celular y más.

ALZET® Las bombas osmóticas se usan ampliamente con ratones inmunodeficientes y cientos de publicaciones dan fe de su valor de investigación en estas especies. Estas bombas de infusión implantables ofrecen una alternativa conveniente a las inyecciones repetitivas para la dosificación continua de animales de laboratorio sin sujeción. Su operación automática, tamaño pequeño y diseño simple los hacen adecuados para estudios de dosificación crónica en modelos de ratones humanizados. No se requiere la intervención del investigador durante la infusión y el manejo de los animales se reduce al mínimo para reducir el riesgo de infección y estrés. Siga leyendo para obtener resúmenes de investigaciones que describen el uso de bombas ALZET en modelos de ratones humanizados.

### Aspectos destacados de la bomba ALZET

- Tamaño pequeño para implantación.
- 9 modelos de bombas para ratones
- Entrega continua y controlada de agentes
- Minimizar los efectos secundarios y las variables experimentales
- Método de dosificación conveniente y rentable
- Reducción del manejo y estrés de los animales.
- Tasas de suministro que van desde 0,11 µl/h hasta 8,0 µl/h
- Duraciones de entrega que van desde 1 día hasta 6 semanas.

### Cepas inmunodeficientes\*

Ratón desnudo

Ratón SCID

Ratón NOD/SCID

Ratón GSN

Ratón NOG

Ratón NRG

\* Consulte la página 4 para obtener descripciones completas

**Dixito et al. Respuesta esquelética a la insulina en el modelo de ratón con diabetes mellitus tipo 1 de origen natural. *JBMR más* 2021;5(5):e10483**

<b>Objetivo</b>	Determinar los mecanismos moleculares y celulares que contribuyen al deterioro de la morfología y composición ósea en la diabetes mellitus tipo 1 (DM1). Una vez determinado, evaluar el impacto del tratamiento con insulina.
<b>modelo de ratón</b>	D-NOD, ND-NOD, NOR
<b>Papel de ALZET</b>	Infusión subcutánea continua de Humulin R usando ALZET Modelo 1002
<b>Resultados clave</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La disminución del volumen óseo en ratones diabéticos se asoció con dos cambios: aumento de la expresión de esclerostina en los osteocitos y atenuación de los índices de formación ósea.</li> <li>La disminución del volumen óseo en ratones diabéticos ocurrió sin cambios en la resorción ósea, lo que sugiere que la DM1 no afectó el proceso de mineralización ósea, sino que resultó en alteraciones microambientales que favorecieron la pérdida mineral de la matriz ósea.</li> <li>Se encontró una desregulación de los genes implicados en la oxidación, el transporte y la síntesis de ácidos grasos en los huesos de ratones NOD diabéticos.</li> <li>La exposición a la insulina resultó en un aumento de los niveles de la isoenzima 4 de la piruvato deshidrogenasa quinasa y del transportador de glucosa 1, y una disminución de los niveles de AKT fosforilada en ratones NOD diabéticos.</li> <li>Los osteoblastos y los osteocitos sufren cambios metabólicos en respuesta a la DM1 que pueden promover la desmineralización de la matriz ósea.</li> </ul>

**Tornero et al. Identificación de combinaciones farmacológicas sinérgicas utilizando xenoinjertos derivados de pacientes con cáncer de mama. *Informes científicos* 2020;10(1):1493**

<b>Objetivo</b>	Identificar combinaciones prometedoras de candidatos terapéuticos dirigidos para el cáncer de mama triple negativo (TNBC) a través de <i>in vitro</i> cribado de 1363 fármacos en modelos de xenoinjerto derivado del paciente (PDX) y evaluación del par de fármacos más prometedor <i>en vivo</i> .
<b>modelo de ratón</b>	Modelo de xenoinjerto derivado del paciente de células TNBC HCl01 de tipo basal en ratones hembra NOD/SCID gamma (NSG)
<b>Papel de ALZET</b>	Infusión subcutánea continua de 7 días de YM-155 a través de ALZET Modelo 1007D
<b>Resultados clave</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificó que la combinación de afatinib (inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)) y YM155 (inhibidor del inhibidor baculoviral de la expresión de 5 que contienen repeticiones de apoptosis (BIRC5; survivin)) es citotóxica en múltiples modelos de TNBC de tipo basal y funciona para reducir Crecimiento tumoral mamario PDX <i>en vivo</i></li> <li>YM155 reduce la expresión de EGFR en células TNBC</li> <li>La alta expresión de EGFR y BIRC5 reduce la supervivencia libre de metástasis</li> <li>Tanto EGFR como BIRC5 se expresan en gran medida en PDX de tipo basal, líneas celulares y pacientes, lo que sugiere que la orientación conjunta de estas proteínas podría ser prometedora para el éxito clínico en TNBC.</li> </ul>

**Vaya et al. La expresión elevada de GCN5 confiere resistencia al tamoxifeno al aumentar la expresión de AIB1 en el cáncer de mama ER positivo. *Cartas de cáncer* 2020;495:145-155**

<b>Objetivo</b>	Investigar el papel del control general no-derepresible 5 (GCN5) y sus genes diana en el cáncer de mama resistente al tamoxifeno (TamR)
<b>modelo de ratón</b>	Ratones NOD-SCID inyectados por vía subcutánea con MCF7-GCN5, MCF7-vec y MCF7-GCN5-shAIB1
<b>Papel de ALZET</b>	Infusión subcutánea continua de tamoxifeno en ratones con tumores de al menos 40 mm <sup>3</sup> en tamaño
<b>Resultados clave</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El aumento de GCN5 en las células de cáncer de mama TamR se vinculó con la preservación del proteasoma</li> <li>La sobreexpresión de GCN5 reguló positivamente la expresión de amplificado en cáncer de mama 1 (AIB1), lo que resultó en una disminución de la estabilidad de p53 y resistencia al tamoxifeno.</li> <li>La sensibilidad al tamoxifeno de las células MCF7 que sobreexpresan GCN5-AIB1 se restableció mediante la expresión forzada de p53.</li> <li>GCN5 promueve la expresión de AIB1 y la resistencia al tamoxifeno en el cáncer de mama al reducir los niveles de p53.</li> <li>GCN5 puede ser un objetivo terapéutico para la resistencia al tamoxifeno en el cáncer de mama y podría servir como un nuevo marcador de pronóstico.</li> </ul>

## Gartung, *et al.* Supresión del aumento de mediador de lípidos/citocinas inducido por quimioterapia y del cáncer de ovario mediante un inhibidor dual de COX-2/sEH. *procedimientos de la Academia Nacional de Ciencias* 2019;116(5):1698-1703

<b>Objetivo</b>	Demostrar que los desechos de células tumorales de ovario generados por la quimioterapia de primera línea basada en platino y taxanos aceleran la progresión del tumor al estimular un "aumento" de citocinas proinflamatorias y lípidos bioactivos derivados de los macrófagos.
<b>modelo de ratón</b>	Ratones SCID y C57BL/6 inyectados con células tumorales de ovario
<b>Papel de ALZET</b>	Infusión intraperitoneal continua de PTUPB, un inhibidor de COX-2 y sEH
<b>Resultados clave</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Los desechos de células tumorales de ovario generados por la quimioterapia de primera línea promueven el crecimiento tumoral al estimular la liberación de citocinas proinflamatorias y mediadores lipídicos en el microambiente tumoral.</li> <li>PTUPB inhibió el crecimiento tumoral estimulado por desechos en un modelo de cáncer de ovario, lo que resultó en una supervivencia sostenida durante más de 120 días.</li> <li>PTUPB evitó el aumento de citocinas y lípidos inducido por la quimioterapia.</li> <li>La inhibición dual de COX-2/sEH puede tener implicaciones clínicas para su uso en combinación con terapias citotóxicas contra el cáncer para aliviar la inflamación mediada por desechos y la tumorigénesis resultante.</li> </ul>

## zhang, *et al.* Dirigirse a la histona metiltransferasa G9a inhibe el crecimiento y la vía de señalización de Wnt mediante la regulación epigenética de la expresión génica de HP1α y APC2 en el cáncer de pulmón de células no pequeñas. *cáncer molecular* 2018;17(1):153

<b>Objetivo</b>	Investigar el impacto de la histona metiltransferasa G9a desregulada en el crecimiento tumoral y las vías de señalización en el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC).
<b>modelo de ratón</b>	Xenoinjerto de células H1299 en ratones NOD/SCID/IL2Rgamma null (NSG)
<b>Papel de ALZET</b>	Infusión intraperitoneal continua de UNC0638, un inhibidor selectivo de G9a, durante 14 días a través de ALZET Modelo 1002
<b>Resultados clave</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se encontró sobreexpresión de G9a en el 43,2 % de 213 tejidos de NSCLC.</li> <li>Dirigirse a G9a por el inhibidor específico UNC0638 reguló a la baja HP1α y restauró epigenéticamente la expresión de APC2 y otros supresores de tumores a través de la desmetilación del promotor</li> <li>La restauración de HP1α y el silenciamiento de APC2 redujeron, respectivamente, los efectos inhibitorios sobre la proliferación celular y la vía de señalización de Wnt en células cancerosas en las que se silenció o suprimió G9a.</li> <li>Apuntar a G9a podría dar como resultado la supresión del crecimiento tumoral y la vía de señalización de Wnt parcialmente a través de la regulación negativa de HP1α y la restauración epigenética de los supresores de tumores como APC2, que están silenciados en el NSCLC.</li> <li>G9a sobreexpresado es un objetivo terapéutico prometedor</li> </ul>

## Ejemplos de modelos de ratones humanizados

Ratón humanizado BLT (hBLT)	Ratón humanizado con PBMC (hPBMC)
<ul style="list-style-type: none"> <li>Modificación del modelo SCID-Hu</li> <li>Ratones NOD/SCID injertados con tejidos de hígado y timo humanos, junto con CD34 autólogo+HSC</li> <li>Robusto sistema hemato-linfoide humano observado entre 12 y 16 semanas después del injerto</li> <li>El sistema inmunológico más funcional de cualquier modelo de ratón humanizado actual</li> <li>Vida media de ~8,5 meses</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ratones NSG injertados con células mononucleares de sangre periférica humana (hPBMC)</li> <li>Perfecto para experimentos a corto plazo donde el injerto de células T es una preocupación principal</li> <li>Permitir estudios a corto plazo que requieran células T humanas sin el período de espera de maduración de células T de 12 semanas</li> </ul>
Ratón humanizado CD34+ (hCD34+)	Ratón GTL o NSG-BLT
<ul style="list-style-type: none"> <li>Injerto robusto de múltiples linajes de células inmunitarias humanas dentro del fondo NSG, que incluye muy buena maduración y función de células T</li> <li>Los ratones hCD34+ tienen una vida más larga que los ratones BLT, lo que permite la ejecución de estudios de mayor duración</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Modificación del ratón BLT: injerto en el NSG en lugar del fondo NOD/SCID</li> <li>Permite experimentos a más largo plazo en comparación con ratones BLT ya que los ratones NSG no desarrollan linfomas tímicos como en el NOD/SCID</li> </ul>

ratones desnudos	Ratones SCID
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mutación espontánea (<i>Foxn1</i>) resulta en falta de vello corporal y timo deteriorado o ausente</li> <li>• Incapaz de inmunidad mediada por células debido a la falta de células T; desarrollo de células B parcialmente defectuoso</li> <li>• inmunidad innata intacta</li> <li>• Receptor de injertos alogénicos y xenogénicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La mutación recesiva da como resultado una actividad deficiente de una enzima involucrada en la reparación del ADN, lo que provoca una respuesta inmunitaria celular y humoral alterada</li> <li>• Inmunidad innata intacta; La actividad de las células NK limita el injerto</li> <li>• Algunas células T y B funcionales se desarrollan con la edad (lo que se conoce como "permeabilidad")</li> <li>• Organismos modelo para el sistema inmunitario, el trasplante de células, las enfermedades infecciosas y la investigación de vacunas</li> <li>• Modelos humanizados: ratones SCID injertados con tejidos fetales humanos (SCID-Hu) o células mononucleares de sangre periférica (Hu-PBL-SCID)</li> </ul>
NOD SCID (NOD.CB17-Prkdc <sup>scid/j</sup> )	Ratón NSG (NOD.Cg-Prkdc <sup>scid</sup> Il2rg <sup>tm1wjl/Szj</sup> )
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mutación SCID transferida al fondo NOD</li> <li>• Carece de células T y B funcionales</li> <li>• Reducción de la actividad de las células NK, alteración de la vía del complemento y reducción de la "fuga" de las células T y B residuales que la cepa SCID</li> <li>• Acepta injertos alogénicos y xenogénicos de manera muy eficiente; utilizado para el trasplante de células y tejidos humanos normales y malignos, incluidos los aislados de cánceres hematopoyéticos</li> <li>• Desarrolla linfomas tímicos a los 8-9 meses; mejor utilizado en experimentos a corto plazo</li> <li>• Receptor de transferencia adoptiva para estudio de diabetes tipo 1 autoinmune</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• también conocido como NOD/SCID gamma, o knockout de la cadena gamma del receptor NOD/SCID IL-2</li> <li>• Ratones NOD/SCID que tienen una mutación específica en la cadena del receptor y de IL-2 que da como resultado una señalización deficiente de múltiples citocinas (IL2, IL4, IL7, IL9, IL15 e IL21)</li> <li>• Defectos graves en la inmunidad innata y adaptativa: carece de células T y B, células asesinas naturales (NK) y actividad del complemento; función reducida de macrófagos y células dendríticas</li> <li>• Sin "fugas" de células T y B asociadas con el envejecimiento</li> <li>• Resistente al linfoma, lo que permite experimentos a largo plazo</li> <li>• Injerto mejorado de células humanas primarias, incluidas PBMC y HSC</li> <li>• Modelo mejorado para hematopoyesis humana, cáncer (leucemia, mieloma múltiple), enfermedades viscerales, diabetes tipo 1 autoinmune, enfermedades infecciosas (SIDA), medicina regenerativa y hematología</li> </ul>
Ratón NRG (NOD.Cg-Rag1 <sup>tm1mamã</sup> Il2rg <sup>tm1wjl/Szj</sup> )	Ratón NOG (NOD/Shi-scid/IL-2Ry <sup>nulo</sup> )
<ul style="list-style-type: none"> <li>• También llamado B6 Rag1; El fondo endogámico B6 simplifica la creación de mutantes inmunodeficientes compuestos</li> <li>• Similar a la cepa NSG, pero la mutación SCID se sustituye por la mutación knockout Rag1, que proporciona una mayor tolerancia a la radiación y la quimioterapia.</li> <li>• Apoyar niveles más altos de injerto de células madre de sangre del cordón umbilical humano después del acondicionamiento por irradiación</li> <li>• Modelo para estudios de injerto de células linfematopoyéticas humanas que requieren un huésped resistente a la radiación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Combinación del ratón NOD/SCID y de la cadena del receptor y de IL-2 (IL2ryKO)</li> <li>• Similar al ratón NSG (The Jackson Laboratory), pero desarrollado por el Central Institute for Experimental Animals (Japón)</li> <li>• La activación a través del receptor de la cadena y de IL-2 está desactivada debido a una cola intracitoplasmática truncada (receptor completamente desactivado en ratones NSG)</li> <li>• Vulnerable al desarrollo de linfomas después de la irradiación, pero produce resultados de injerto similares (en comparación con NSG) incluso cuando no se irradia</li> </ul>

Recursos:

- Ito *et al.* Inmunología Celular y Molecular 2012;9:208-214
- shurtz *et al.* Nature Reviews 2007;7:118-130
- <https://www.jax.org/>
- [www.ciea.or.jp/en](http://www.ciea.or.jp/en)