

# EL PEZ CEBRA, AL SERVICIO DE LA INVESTIGACIÓN EN CÁNCER

María L. Cayuela Fuentes, Francisca Alcaraz Pérez y Monique Angelín Flageu  
 Grupo de Telomerasa, Cáncer y Envejecimiento en el Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca-FFIS.  
 E-mail: cayuelamarialuisa@gmail.com

## Introducción:

¿Qué hace un pez como tú en un artículo sobre cáncer como éste? Mientras para la mayoría de personas el pez cebra, un pez tropical llamado así por sus rayas, no deja de ser más que una mascota popular, para los científicos se ha convertido en un nuevo modelo de laboratorio que complementa al modelo clásico de ratón.

El embrión de pez cebra no llega a medir más de 1 mm, mientras que el adulto mide entre 3-4 centímetros. Los machos y las hembras son fácilmente reconocibles (figura 1). Precisamente su pequeño tamaño es una de las ventajas que tiene para los laboratorios de investigación, ya que se puede tener mayor cantidad de animales en menos espacio y su mantenimiento es relativamente barato (entre 100 y 1000 veces menos que el coste de mantenimiento de ratones de laboratorio).

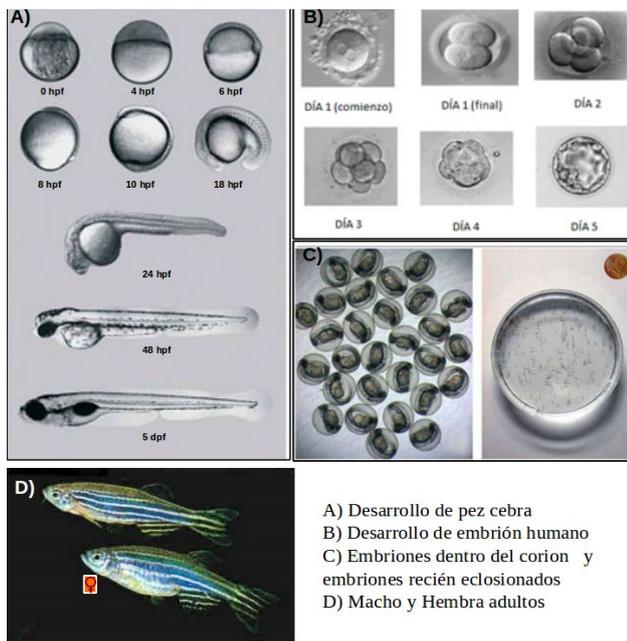


Figura 1.

Cada hembra puede depositar más de 200 embriones por semana. Estos embriones, que se desarrollan fuera de la madre protegidos por una membrana (el corion), son transparentes y su organogénesis ocurre en 24 horas. ¡Todo un milagro de la división y diferenciación celular!. Lo demuestra cuando lo comparamos con el desarrollo embrionario humano, donde después de 22 horas tras la fecundación sólo se ha producido una división celular y cinco días después de la fecundación somos un blastocisto con 200 células

multipotentes. Mientras el embrión de pez cebra ha eclosionado al tercer día y se ha convertido en toda una larva al quinto día después de la fecundación. En un mes se le considera que es un juvenil y en tres meses puede reproducirse de manera continua, manteniéndose fértiles durante más de 18 meses, asegurando un suministro constante de embriones con pocos individuos. El pez cebra llega al final de su vida entre los dos años y los tres años y medio.

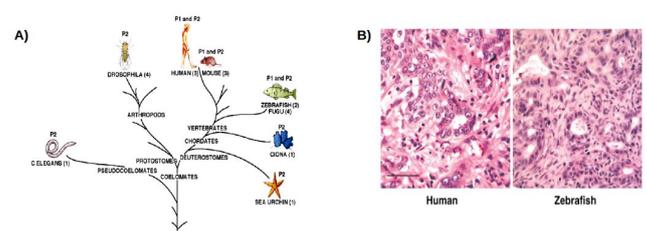


Figura 2.

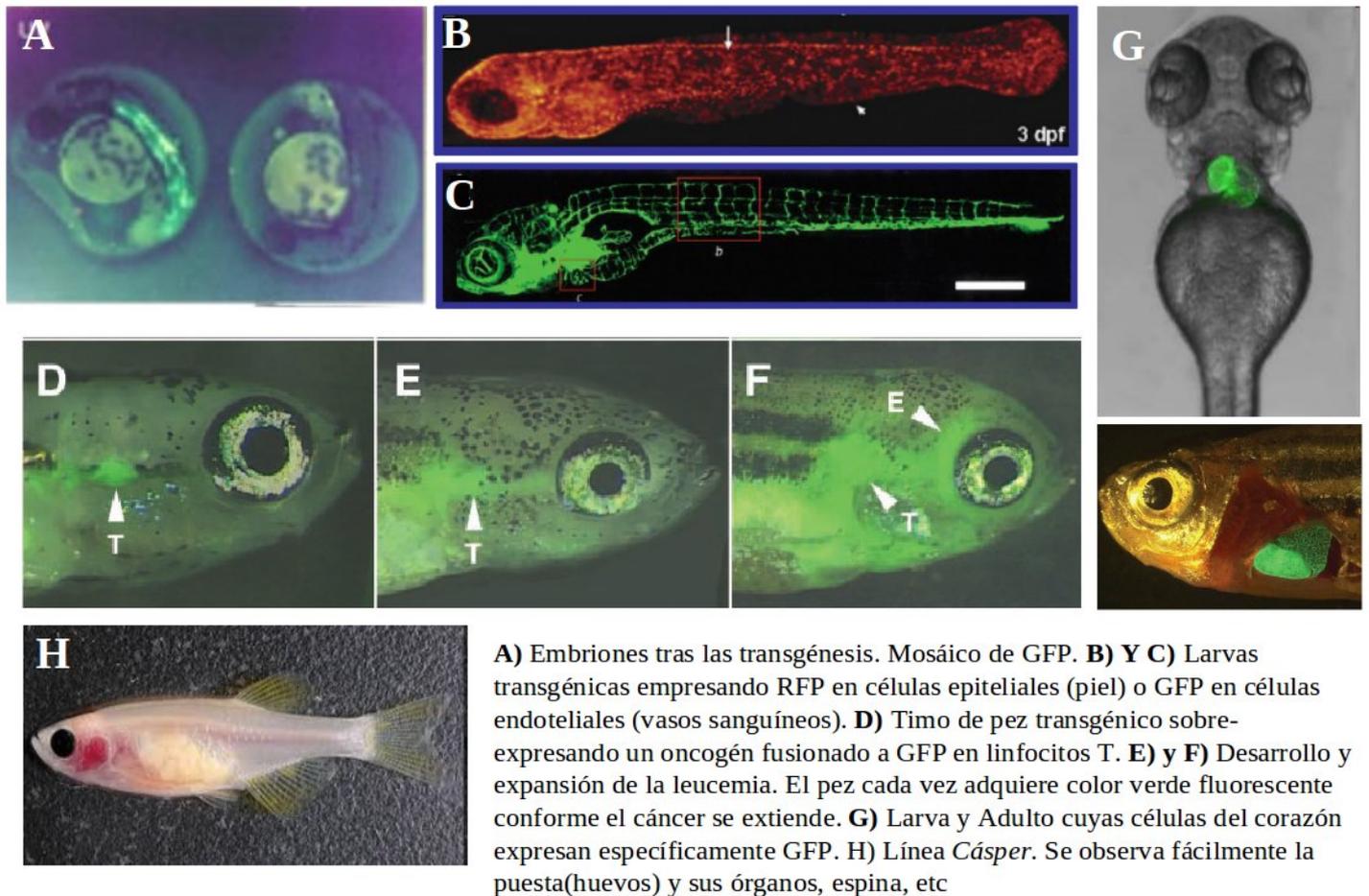
Muchas son las ventajas de este pequeño vertebrado con el que compartimos un ancestro común y del que divergimos evolutivamente hace 400 millones de años. Gracias al desarrollo de herramientas como la secuenciación completa de su genoma y el estudio global de los patrones de expresión génica ha permitido poner de manifiesto el alto grado de semejanza genética y fisiológica con el ser humano en procesos fundamentales. Uno de esos procesos es el cáncer, donde no solo se conservan la mayoría de genes implicados en este proceso si no que además también se encuentran alterados de una manera similar a las rutas genéticas típicamente desreguladas en los tumores humanos. Esta semejanza no solo ocurre a nivel molecular, a nivel histopatológico las neoplasias de los peces son bastante similares al cáncer en humano. (figura 2). Por otro lado, el pez cebra no es buen modelo para todos los tipos de tumores. El pez no tiene tejido mamario, y tiene branquias en lugar de pulmones. Pero aunque el pez cebra no pueda ser un modelo directo para el cáncer de mama y de pulmón, seguramente el mecanismo molecular que lo produce se conserva en otros tipos de tumores. Pero ¿que es lo que lo convierte en un modelo atractivo para la investigación en general y el cáncer en particular? Fundamentalmente tres aspectos;

**Fácil manipulación genética:** Para que un organismo pueda ser modelo de una enfermedad como el cáncer, es necesario que se pueda manipular /alterar los genes implicados en este proceso. Afortunadamente ha habido un fuerte impulso por parte de la comunidad científica por desarrollar técnicas alrededor del modelo que permiten hacer animales transgénicos o

mutantes con relativa facilidad. Esto permite a los investigadores estudiar el efecto de la sobreexpresión/inhibición de genes.

Por otro lado y gracias a su rápida organogénesis y angiogénesis (en 24 horas) se pueden realizar estudios transitorios (durante 7 días) introduciendo fácilmente (por microinyección) ARN-m ó ADN en embriones de pez cebra antes de las primeras divisiones, con lo que se consigue que las células del embrión fabriquen la proteína correspondiente. De manera opuesta, también se puede reducir los niveles normales de producción de proteínas, por ejemplo utilizando morfolinós (que son oligonucleótidos modificados que se unen al ARN-m) y evitan la síntesis de proteína.

Todo ello ha permitido la evaluación rápida de la función de genes diana sin la necesidad del construir un modelo estable, lo que supone menos esfuerzo y una manera preliminar de discriminar los genes con más o menos implicación o relevancia. Siempre en el contexto de un organismo completo. Los estudios de la función de determinadas diana, tanto en modelos estables como en expresiones transitorias, se realizan in vivo y son fácilmente observables mediante la introducción de proteínas fluorescentes en las células de interés. Estas proteínas emiten luz de color verde, roja, azul (según la proteína introducida) cuando es estimulada con luz y se pueden combinar entre si.



**A)** Embriones tras las transgénesis. Mosáico de GFP. **B) Y C)** Larvas transgénicas expresando RFP en células epiteliales (piel) o GFP en células endoteliales (vasos sanguíneos). **D)** Timo de pez transgénico sobreexpresando un oncogén fusionado a GFP en linfocitos T. **E) y F)** Desarrollo y expansión de la leucemia. El pez cada vez adquiere color verde fluorescente conforme el cáncer se extiende. **G)** Larva y Adulto cuyas células del corazón expresan específicamente GFP. **H)** Línea *Cásp*er. Se observa fácilmente la puesta(huevos) y sus órganos, espina, etc

Figura 3.

Su transparencia. La transparencia del embrión ha permitido el desarrollo de técnicas innovadoras de observación basadas en la utilización de proteínas fluorescentes o colorantes vitales que permiten la observación de fenómenos in vivo y en directo. Mediante el uso de líneas transgénicas que expresan tales moléculas no solo se puede identificar grupos de células, sino también órganos e incluso procesos tumorales. La transparencia del embrión ha permitido identificar la dinámica de expansión de una leucemia in vivo al ser sobre-expresado un oncogén fusiona-

do al gen GFP (figura 3). Los cambios morfológicos o funcionales en órganos internos pueden por tanto ser detectados sin tener que sacrificar o diseccionar a los organismos. Y aunque la transparencia del modelo era sólo durante los primeros estadios de desarrollo, actualmente existe una línea mutante que es transparente durante todo su ciclo de vida, la línea llamada Casper, lo que permite una mejor monitorización de los procesos descritos.

**Escrutinios a gran escala**

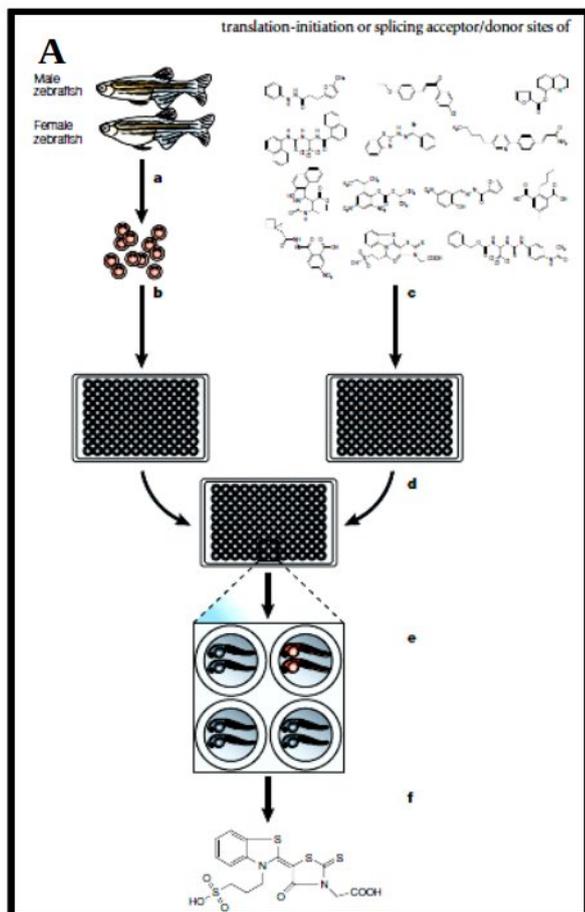
La llave de su éxito y su mayor ventaja quizá se deba a la posibilidad de realizar experimentos a gran escala (figura 4), ya que permite generar plataformas encaminadas al análisis sistemático de compuestos químicos con potencial terapéutico.

Por el número de su descendencia y su tamaño (1 mm) se puede hacer experimento a una escala impensable en vertebrados. Todo ello, junto con el uso de marcadores fluorescentes, los peces transparentes rápidamente han sido combinados con el escrutinio a gran escala. Es importante decir que no cabe pensar en una aproximación similar con roedores, cuyo desarrollo ocurre in utero y tiene una descendencia limitada de embriones. Por su parte, los resultados obtenidos de cultivos celulares, se resienten de la falta de contexto, tanto en lo que se refiere al tipo de

tejido como a la fase del desarrollo. Además la mayoría de líneas celulares cuentan con mutaciones con lo que no se parte de unas condiciones nativas u óptimas para los ensayos.

Sin embargo, el mayor ahorro es el de compuestos químicos. Varias larvas pueden vivir en un volumen de líquido del tamaño de una gota de agua por lo que sólo se necesitan cantidades mínimas de los compuestos por ensayo.

Por este camino se han identificado nuevos genes y compuesto químicos que regulan la proliferación descontrolada de células, o que aumentan la proliferación de las células madre hematopoyéticas, aumentando el éxito de los autotransplante en pacientes con leucemias. Una esperanza de tratamiento para las personas con cáncer.



A) Esquema de escrutinio a gran escala con librerías de compuestos químicos. Se busca aquel con capacidad de activar una respuesta cuantificable por emisión de fluorescencia roja. B) Células humanas tumorales teñidas con un colorante vital rojo fluorescente y transplantadas en el saco vitelino. Tras tres días las células hacen metástasis y migran a diferentes lugares del sitio microinyectado C) Detalle de las metástasis

Figura 4.

Se han establecido multitud de modelos para diferentes tipos de cáncer, como melanomas, de hígado, leucemias etc. Estos modelos, acoplados con la posibilidad de evaluar el efecto de numerosos compuestos químicos, tienen un grandioso potencial terapéutico y abre una nueva etapa al tratamiento del cáncer.

Los tumores de pez cebra, aunque similares a los humanos, rara vez hacen metástasis. La metástasis es un proceso complejo en el cual las células del tumor primario invaden los tejidos vecinos. Sin embargo cuando transplantamos células tumorales humanas teñidas con un colorante vital para monitorizarlas en embriones de pez cebras, éstas sí que son capaces de

colonizar otros nichos La metástasis es la responsable aproximadamente del 98 % de las muertes por cáncer y no hay de momento tratamiento terapéutico para prevenirlo. Así que de nuevo el pez cebra se pone al servicio de la biomedicina, y estamos utilizando estos embriones xenotrasplantados para la búsqueda de compuestos que sean capaces de inhibir la metástasis de las células tumorales. Se tratará de encontrar

algún compuesto para un tratamiento generalizado en pacientes con cáncer (figura 4).

El límite con el pez cebra y sus aplicaciones parece hallarse solo en la imaginación de los científicos y su capacidad para generar nuevos modelos en el pez cebra que modelen algún aspecto del cáncer.