

Recibido: 23.11.2022 • Aceptado: 04.11.2024

Palabras clave: Cáncer, enfermedades humanas, modelo de estudio, obesidad, pez cebra.



El pez cebra como modelo de estudio de enfermedades humanas

ANA PAULINA BARBA
DIVISIÓN DE BIOLOGÍA MOLECULAR DEL INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA,
IPICYT
apbarba@ipicyt.edu.mx
GABRIELA VÁZQUEZ RODRÍGUEZ
BIOREPERIA AB, SUECIA
abygr21@hotmail.com

El pez cebra es un pequeño pez tropical que vive en ríos, sin embargo, es común encontrarlo en acuarios. Se ha descubierto que este pequeño pez es un modelo de estudio para investigar enfermedades humanas. Aunque estos dos seres son tan diferentes, el pez cebra comparte el 70 % de genes con los humanos y, de estos, el 86 % se relacionan con alguna enfermedad humana. Desde hace mucho tiempo el pez cebra se ha usado como modelo de estudio, pero recientemente su uso ha incrementado en investigaciones sobre desarrollo de enfermedades humanas. Estos pequeños pececillos tienen un gran potencial para la investigación avanzada en medicina en el futuro.

En el trabajo de investigación enfocado a entender el desarrollo de enfermedades humanas se utilizan varias técnicas; algunas veces, se emplean muestras de células o tejidos de pacientes. Para determinar si la enfermedad que se debe a una mutación de un gen (cambio de la secuencia del ADN) es la causa de los síntomas y desarrollo de la enfermedad, es necesario el uso de modelos de animales experimentales (Hill, 2020).

Mientras que los ratones y ratas son la selección más común en el estudio de enfermedades humanas, desde 1960 el pez cebra se ha convertido en una herramienta invaluable para el avance de la medicina y para conocer las causas de múltiples enfermedades. La popularidad del pez cebra como modelo de estudio aumenta rápidamente y en este artículo se explica por qué este pequeño pez es un gran modelo de estudio.



Figura 1.
Peces cebra cultivados en el laboratorio para investigación.

¿Quién es el pez cebra?

El pez cebra, cuyo nombre científico es *Danio rerio*, es un pequeño pez tropical de agua dulce, nativo del sur de Asia, que mide entre 4 y 5 centímetros de largo. En la naturaleza se encuentran en ríos, aunque ahora es muy común encontrarlos en tiendas de mascotas. El nombre "pez cebra" proviene de sus líneas azul-moradas horizontales que van desde las agallas hasta la cola del pez y se asemejan a la cebra, el icónico animal localizado en el parque de Serengeti, al norte de Tanzania, es por ello por lo cual este pez lleva ese nombre. El pez cebra es fácil de mantener y cultivar en el laboratorio (Figura 1); sin embargo, las condiciones de cultivo deben ser controladas, ya que la nutrición, la calidad del agua o los patógenos pueden influenciar en los resultados científicos, diversos protocolos para el cuidado de pez cebra se pueden encontrar en <https://www.youtube.com/watch?v=ew2ayFEH9PA>.

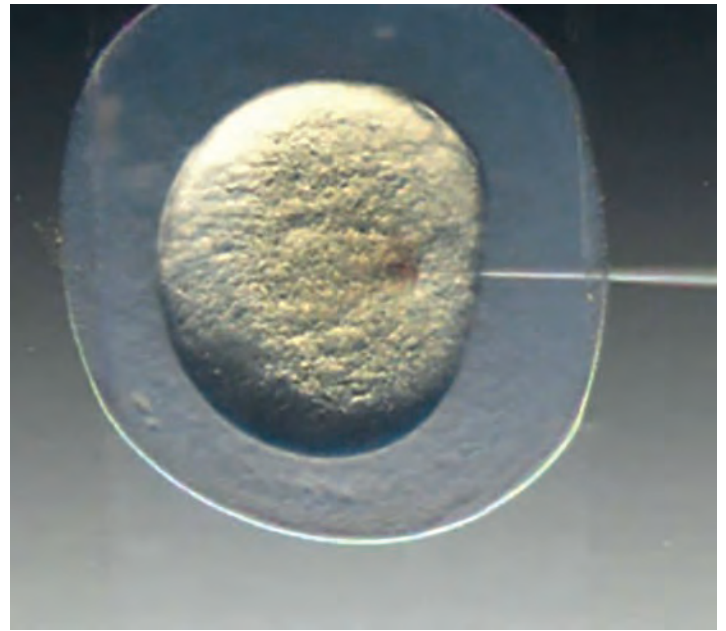


Figura 2.
Microinyección de embrión de una célula de pez cebra.

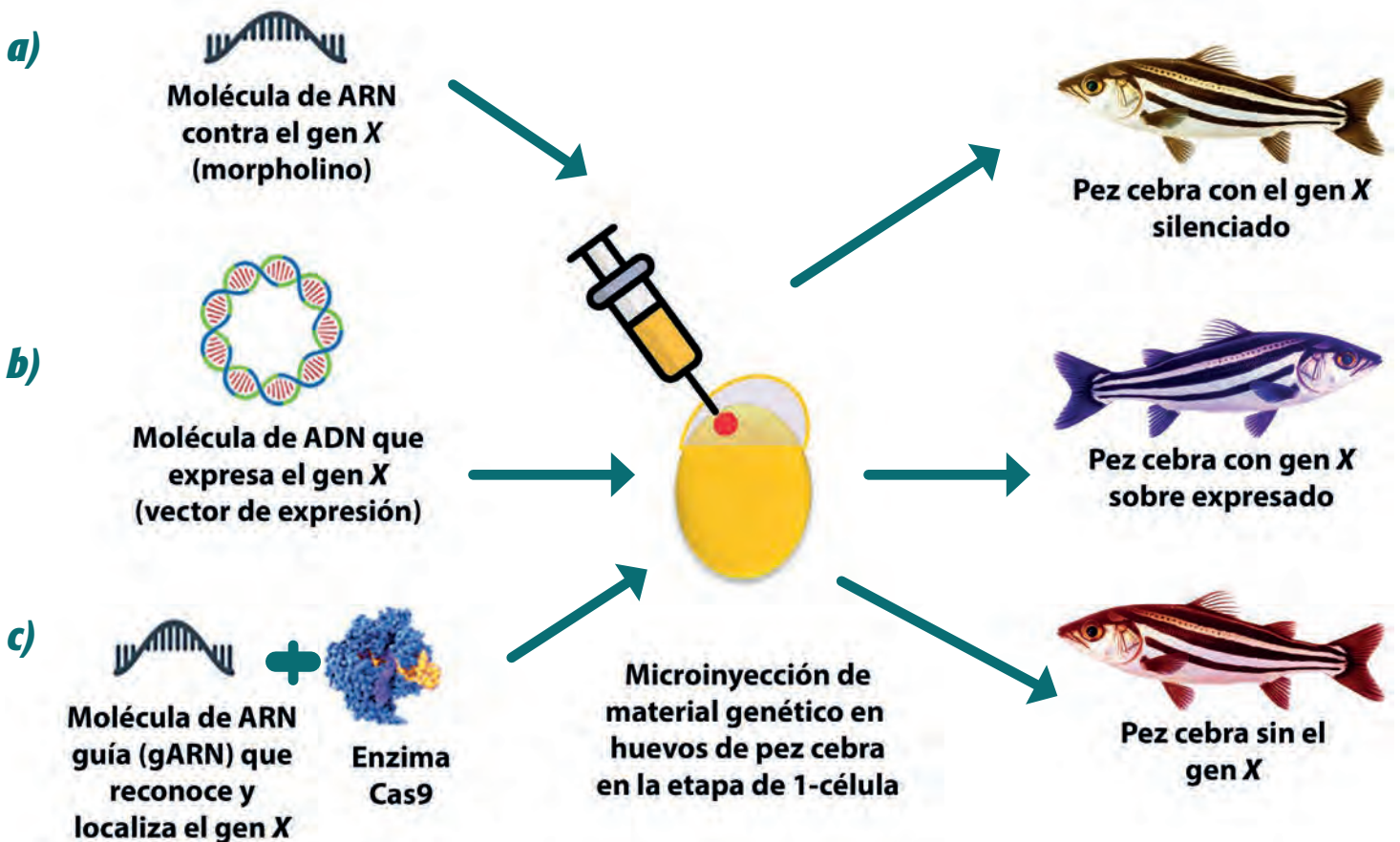


Figura 3.
Mutación de embrión de pez cebra mediante la microinyección de una molécula de ADN o ARN (morpholino) o mediante manipulación CRISPR-Cas.

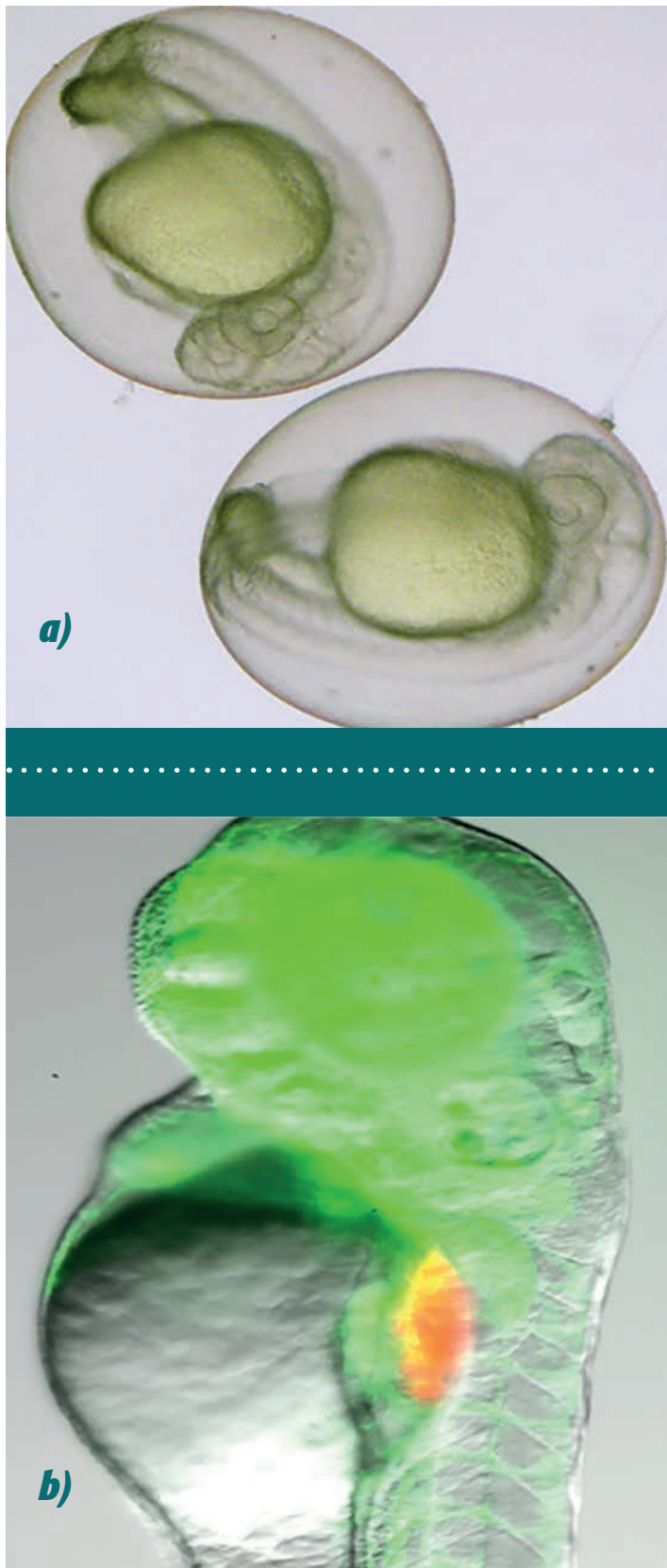


Figura 4.
 a) Embrión de pez cebra a los dos días de edad. b) Embrión de pez cebra transgénico (vasos sanguíneos en verde) con tumor (rojo).

¿Por qué el pez cebra se usa para investigar las causas de enfermedades humanas?

Aunque pareciera que los humanos son extremadamente diferentes al pez cebra, éstos comparten más similitudes de lo que se pudiera observar a simple vista. De hecho, el 70 % de genes humanos se encuentran dentro del pez cebra y, de estos, el 86 % son genes que están relacionados a alguna enfermedad humana (Howe *et al.*, 2013).

El pez cebra tiene dos ojos, una boca, cerebro, espina dorsal, intestino, páncreas, hígado, ductos biliares, riñones, esófago, corazón, oídos, nariz, músculos, huesos, sangre, cartílagos y dientes. Muchos de los genes y rutas críticas que se requieren para su desarrollo están altamente conservados entre humanos y pez cebra. Por lo tanto, cualquier enfermedad que provoque cambios en estas partes del cuerpo, en teoría, pueden modelarse en el pez cebra.

El ejemplo más conocido y representativo que existe es el de la talidomida, un medicamento que salió al mercado en 1957 para tratar las náuseas y malestar matutino durante los primeros tres meses del embarazo, pero que fue discontinuado en 1961 debido al elevado número de bebés nacidos con malformaciones en extremidades, ojos, oídos y corazón. Para ese entonces, el pez cebra ya estaba ganando popularidad como modelo de desarrollo embrionario, por lo que se observó que, al tratar embriones de pez cebra con talidomida, se replicaban las mismas malformaciones en extremidades (principalmente aletas laterales). Fue aquí donde el pez cebra tomó un papel fundamental para descubrir las causas del por qué la talidomida causó dichas malformaciones (Ito *et al.*, 2010).

Ventajas de usar pez cebra como modelo de estudio

Mientras que el ratón es evolutivamente similar a los humanos porque somos mamíferos, el pez cebra tiene varias ventajas sobre sus competidores peludos; una de ellas es que los peces cebra adultos son pequeños y prefieren vivir en grandes grupos, como resultado, se requiere mucho menos espacio y es más barato mantenerlos a diferencia de un ratón. Otra ventaja, es que un pez cebra adulto se reproduce rápidamente, aproximadamente cada 15 días, y una pareja de peces adultos puede producir de 100 a 200 huevos a la vez.

Los embriones de pez cebra también se depositan y fertilizan externamente y son transparentes, lo que permite que sean fácilmente inyectados con material genético (Figura 2).

Por ejemplo, los huevos fertilizados en la etapa de una célula pueden ser fácilmente inyectados con DNA o ARN (morpholino) para generar peces transgénicos aumentando o inhibiendo la expresión de un gen determinado (Figura 3A y 3B). En ratones esto es más complicado debido a que los embriones de ratón se desarrollan dentro de la madre por lo que para acceder a ellos es necesario sacrificar a la madre y trasplantar los embriones modificados a otra madre ratón.

Algunas veces el DNA de un paciente es secuenciado para encontrar la región que es diferente o mutada del

gen lo cual puede ser potencialmente la causa del desarrollo de la enfermedad. Para poder comprobar si un determinado cambio en un gen es la causa de los síntomas observados en el paciente, el mismo gen de pez cebra puede ser modificado o eliminado y entonces se observa si el pez desarrolla los mismos síntomas del paciente. A este proceso se le llama mutagénesis dirigida y se realiza utilizando la técnica más moderna conocida como CRISPR-Cas, generando peces cebra mutantes estables en tan solo un par de semanas (Figura 3C)

El pez cebra como modelo para investigar enfermedades humanas

Algunas veces, el ADN de un paciente es secuenciado para encontrar la región mutada o diferente del gen, el cual puede ser la causa potencial del desarrollo de la enfermedad. Para comprobar si un determinado cambio

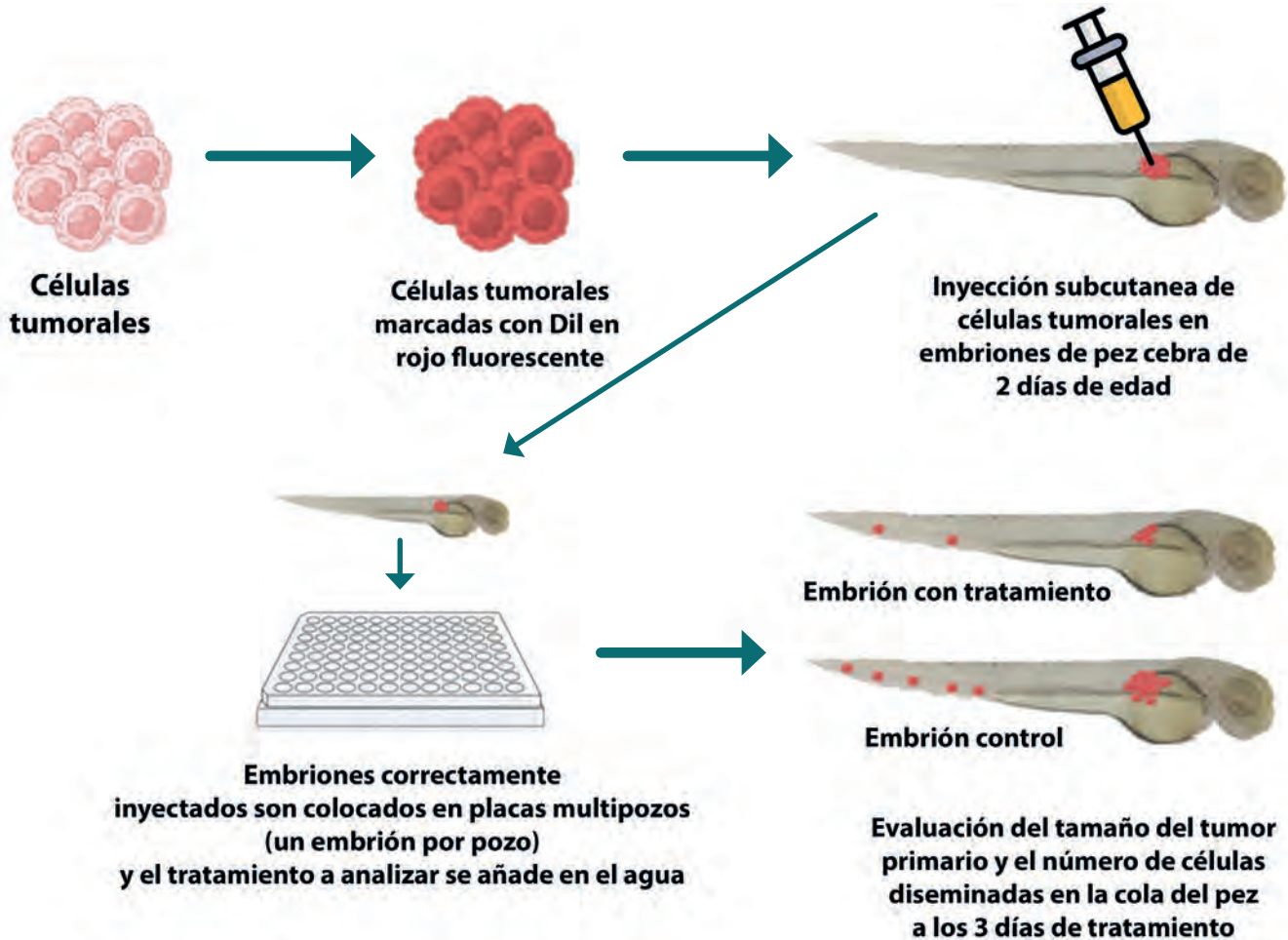


Figura 5. Modelo de xenoinjerto tumoral en embriones de pez cebra para estudiar el efecto de diferentes fármacos en la eficacia del tratamiento en el tamaño de tumor primario y metástasis.

en un gen es la responsable de los síntomas observados en el paciente, se puede modificar o eliminar el mismo gen de pez cebra y observar si éste desarrolla los mismos síntomas del paciente. A continuación se describen algunos ejemplos de enfermedades humanas estudiadas en pez cebra.

a) Distrofia

La distrofia muscular de Duchene es un trastorno hereditario caracterizado por la debilidad muscular progresiva. Los pacientes que padecen esta enfermedad presentan mutaciones en el gen distrofina. Tanto en humanos como en el pez cebra, la mutación de distrofina provoca una necrosis gradual de las fibras musculares, que son remplazadas por células inflamatorias, fibrosis y fibras musculares de tamaños anormales.

b) Cáncer

Durante décadas, los embriones de pez cebra han sido usados para estudiar los procesos biológicos que contribuyen al crecimiento y metástasis del cáncer. Debido a su transparencia, rápido crecimiento y de fácil manipulación genética, el embrión de pez cebra se ha convertido en uno de los modelos animales más populares, sólo después del ratón.

Para estudiar el cáncer, se utilizan embriones de dos días de edad (Figura 4A). La transparencia de los embriones permite observar bajo el microscopio el comportamiento de

las células cancerosas y su interacción con el microambiente que las rodea. Para esto, las células tumorales se marcan con moléculas fluorescentes y se inyectan en los embriones, formando microtumores capaces de crear metástasis en el embrión. Dichas células tumorales pueden modificarse genéticamente para estudiar los genes responsables de la metástasis. Además, se pueden utilizar embriones transgénicos en los que los vasos sanguíneos se pueden visualizar mediante fluorescencia verde (Figura 4B). Los resultados obtenidos en el pez cebra son altamente similares a los obtenidos en ratones (ALI, *et al.* 2022).

Los modelos de xenoinjerto tumoral en embriones de pez cebra han revolucionario el estudio de cáncer. En este modelo las células tumorales humanas se marcan con moléculas fluorescentes, tales como Dil rojo fluorescente y se inyectan en embriones de dos días de edad, posteriormente los embriones inyectados se colocan en placas multipozos conteniendo agua con el medicamento a analizar. Después de solo 3 días de tratamiento, el efecto del medicamento en el tamaño del tumor primario y la metástasis de células tumorales puede ser analizado (Figura 5). Los resultados que se obtienen en el embrión de pez cebra correlacionan a lo observado

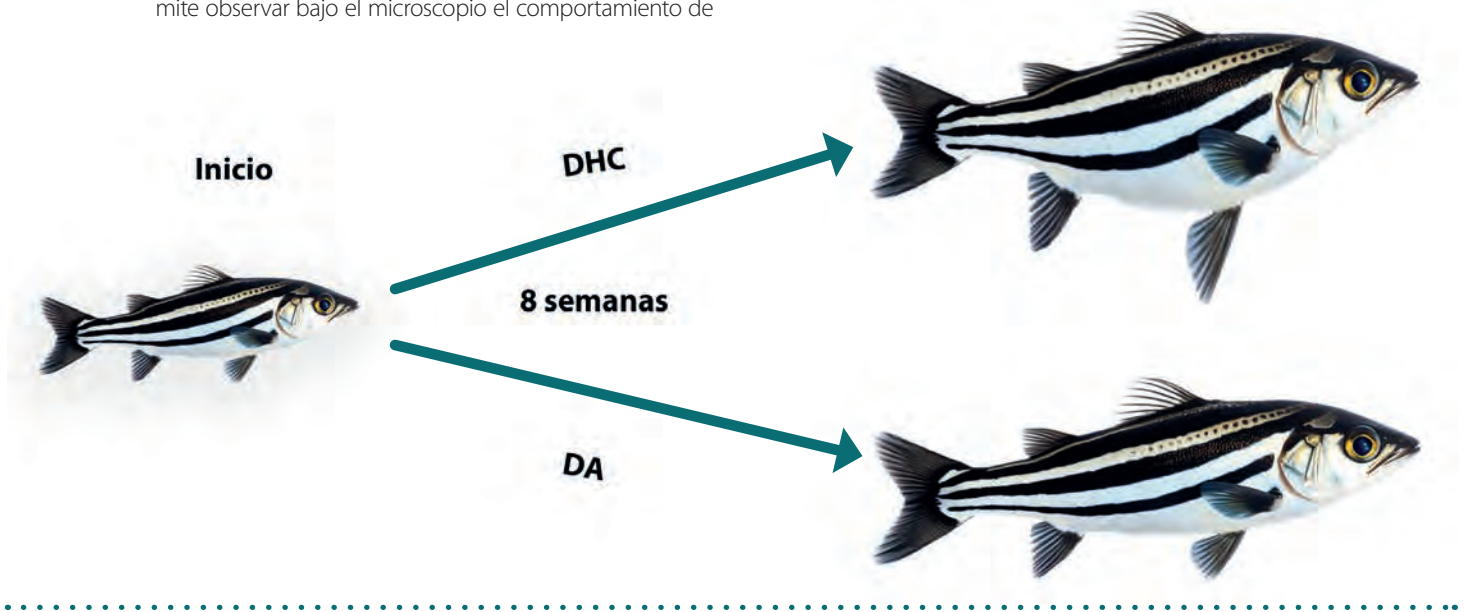


Figura 6. Efecto de la dieta hipercalórica y de la dieta suplementada con amaranto en el crecimiento del pez cebra. Modificado de Torres S, Tesis Maestría-DBM, IPICYT.

Es Ingeniera Bioquímica en Alimentos por el Instituto Tecnológico de Celaya. Con estudios de Maestría y Doctorado en Biotecnología Vegetal por CINVESTAV-U, Irapuato. Actualmente se desempeña como Profesor-Investigador- Titular “C”, en el IPICYT, en la División de Biología Molecular. Profesor-Investigador Nivel 3 del SNI. En la actualidad, trabaja en proyectos como la “Caracterización de compuestos bioactivos con actividad neuroprotectora”; “Omicas en el estudio de respuesta estrés en plantas”, así como “Dieta-microbiota y salud”.



en pacientes y a los obtenidos si se usara ratón. Diversos grupos de investigación han demostrado que el modelo de xenoinjerto tumoral en embriones de pez cebra es capaz de predecir cuál tratamiento de quimioterapia será de mayor beneficio para el paciente en diferentes tipos de cáncer (Lindahl *et. al.*, 2024).

c) obesidad

La obesidad es uno de los problemas actuales de salud pública de mayor importancia, debido a que es una enfermedad crónica multifactorial que implica factores ambientales y de comportamiento, así como factores genéticos (OMS, 2021). Se caracteriza por una acumulación excesiva de tejido adiposo y, en consecuencia, un aumento desmedido de peso corporal. La obesidad es un factor de riesgo para el desarrollo de otras enfermedades como la diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y cáncer (OMS, 2021). Se han reportado diversos enfoques para el tratamiento de la obesidad, pero el más efectivo se relaciona con el control de dieta y el consumo de alimentos nutritivos y nutracéuticos (OMS, 2021).

En el pez cebra se han desarrollado modelos de obesidad inducidos por dietas alta en grasa, estos modelos son de gran utilidad para los estudios del efecto del consumo de alimentos obesogénicos y alimentos nutracéuticos y su potencial para contrarrestar enfermedades metabólicas (Figura 6).

La importancia y popularidad del embrión de pez cebra es tal que existen empresas en Europa y Estados Unidos de América que ofrecen sus servicios de investigación basados en el pez cebra (Creative Biolabs; Turku Biosciencie; Zirc Health Services) También existen empresas farmacéuticas enfocadas a descubrir y desarrollar nuevos tratamientos anticancerígenos, reduciendo considerablemente el

tiempo de evaluación de un medicamento en las pruebas preclínicas e incrementando las probabilidades de éxito en las pruebas clínicas. Sumado a ello, en Suecia, el modelo de cáncer en embriones de pez cebra fue recientemente certificado como dispositivo médico para detectar el tratamiento de quimioterapia que mejor se adapte a cada paciente y así reducir de esta manera las muertes por cáncer (BioReperia, <https://bioreperia.com>).

En resumen, estos pequeños pececillos tienen un gran potencial para el estudio avanzado de la medicina en el futuro. Hoy en día, varios grupos de investigación están escogiendo al pez cebra como organismo modelo para sus investigaciones sobre medicina regenerativa. El Instituto Salk, en California, estudia la regeneración del corazón, el Max Planck, en Alemania, se enfoca en descubrir la función de los genes humanos, mientras que el Hospital Infantil de Boston estudia la sangre del pececillo para combatir la anemia. **UP**

Referencias bibliográficas:

- Ito, T., Ando, H., Suzuki, T., Ogura, T., Hotta, K., Imamura, Y., Yamaguchi, Y., Handa, H. (2010). Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. *Science* 327(5971):1345-1350. Doi:10.1126/science.1177319.
- Ali, Z., Vildevall, M., Vazquez-Rodriguez, G., Tandiono, D., Vamvakaris, I., Evangelioi G., Lolas, G., Syrigos, K.M., Villanueva, A., Wick, M. Omar, Sh., Erkstam, A., Schueler, J., Fahlgren, A., Jensen, L.D. (2022). Zebrafish patient-derived xenograft models predict lymph node involvement and treatment outcome in non-small cell lung cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 41 Article 58. <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02280-x>
- Hill, M.A. (2022). Embryology Zebrafish Development. de https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Zebrafish_Development.t Revisado Noviembre 2022.
- Howe, K., Clark, M.D., Torroja, C.F., Tarrance, J., Berthelot, C., Muffato, M., et al. (2013). The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature* 496(7446):498-503. DOI:10.1038/nature12111.
- Lindahl, G., Fjellander, S., Selvaraj, K., Vildeval, M., Ali, Z., Almtor, R., et al. (2024). Zebrafish tumour xenograft models: a prognostic approach to epithelial ovarian cancer. *npj Precision Oncology* 8(1), 53, 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41698-024-00550-9>.