



Facultad de Medicina
Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas
Laboratorio de fisiología del músculo esquelético

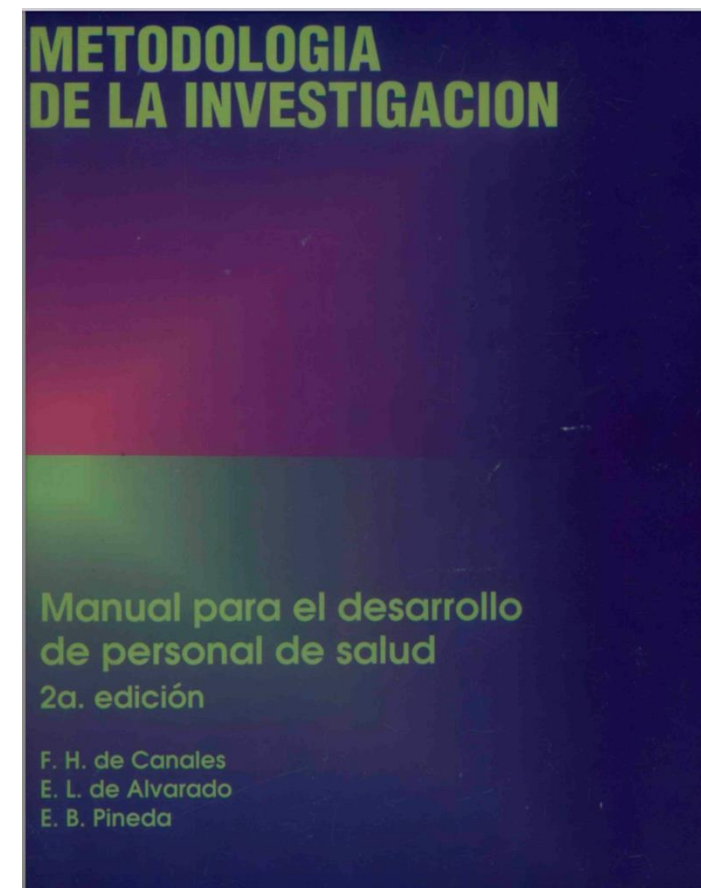
Diseños experimentales con animales: Modelo de diabetes y modelo de preeclampsia

Presentan:

Julio Cesar Alcaraz Siqueiros
Hector Mariano Jimenez Leal
Minerva Silvia Marquez Villar

Viernes 13 de septiembre de 2024

Bibliografía



[Consulta los libros](#)



Teoría del conocimiento

Epistemología

Desarrollo del conocimiento a través de la época

1. **Possibilidad** del conocimiento

Escepticismo

Dogmatismo

2. **Naturaleza** del conocimiento

Idealismo

Realismo

3. **Obtención** del conocimiento

Empírico

Filosófico

Científico



Investigación científica

Proceso razonamiento-cuestionamiento

- Comienza con la abstracción.
- Hecho nuevo, poco conocido, explicación insuficiente, necesidad de confirmación.
- Cada característica se ordena y clasifica como observación.
- Cada observación se valora con un enfoque deductivo o inductivo.
- Teoriza y propone hipótesis para explicar el hecho.

Tipos de investigación

Una vez que las cuestiones están bien establecidas, se fija el criterio del diseño a utilizar para la obtención de datos del mundo real. Las estrategias seguidas en un plan de investigación difieren ampliamente de acuerdo con las medidas que se toman en cuanto a la aleatorización y, por lo tanto, a la validez de las conclusiones que se obtienen.

Los distintos tipos de investigación definidos por estas estrategias pueden resumirse en:

- *Investigación básica*
- *Investigación aplicada*
- *Investigación documental*
- *Investigación de campo*
- *Investigación experimental*



Observacionales

Descriptivos



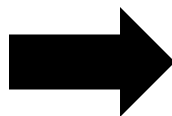
- Reporte de casos
- Serie de casos
- Estudios de corte transversal
- Estudios poblacionales, ecológicos
- Estudios correlacionales

Analíticos



- Estudios de casos y controles
- Estudios de Cohorte
- Estudios de pruebas diagnósticas
- Revisión sistemática
- Metaanálisis
- Umbrella Review

Experimentales



- Preclínica/Modelos animales
- Ensayo clínico
- Cuasi experimentales



Diseños experimentales

¿Qué es un experimento?

Elegir o realizar una acción y después observar las consecuencias.

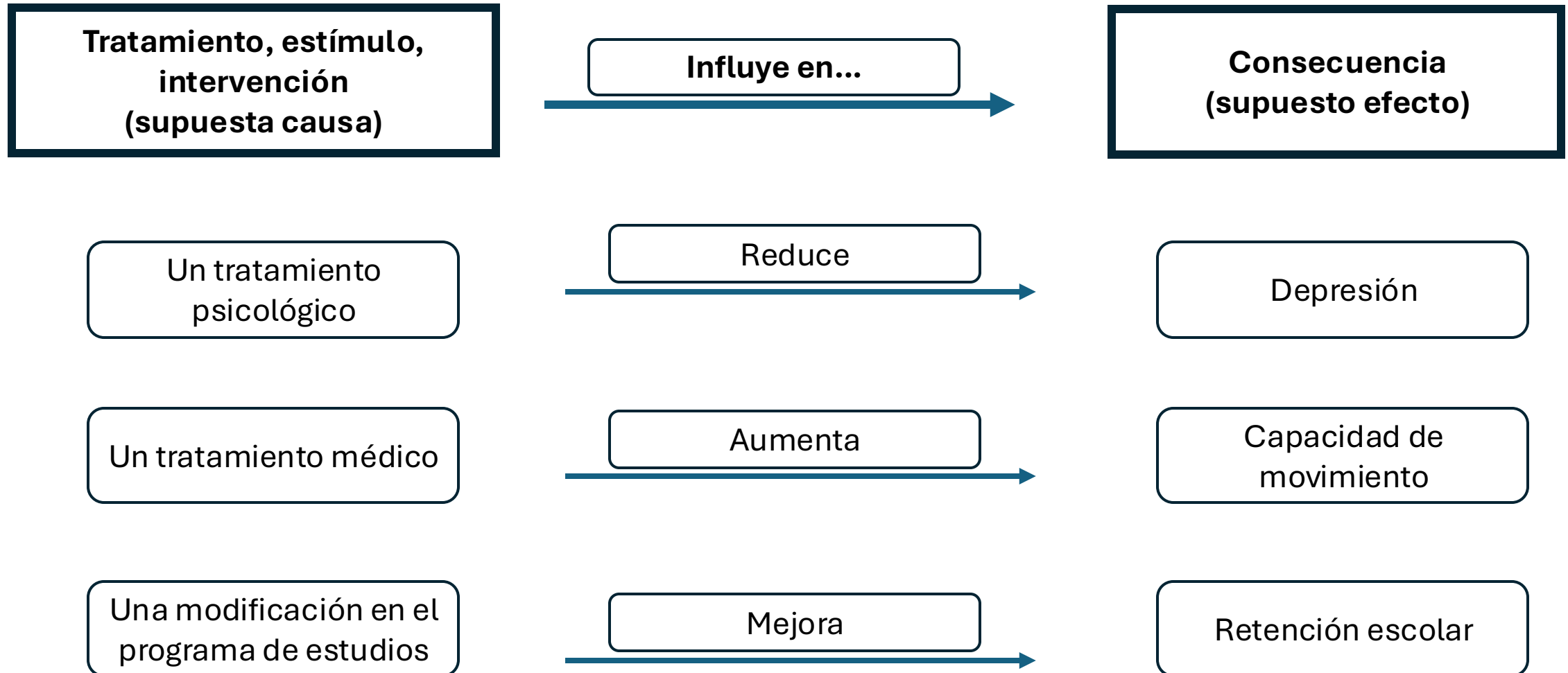
Es un estudio en el que se **manipulan intencionalmente** una o más **variables independientes** (supuestas causas-antecedentes), para analizar las **consecuencias** que la manipulación tiene sobre una o más **variables dependientes** (supuestos efectos-consecuentes), dentro de una situación de control para el investigador.





Diseños experimentales

Se **manipulan** tratamientos, estímulos, influencias o intervenciones (variables independientes) para **observar sus efectos** sobre otras variables (las dependientes) en una situación de control.





Requisitos para un experimento

- 1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.
- 2.- Que la variables, dependiente e independiente, sean medibles.
- 3.- Control o validez interna





1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.

Requisitos para un experimento

Variable independiente

Variable dependiente

1 variable: X

Niveles: n

X_1

X_2

X_3

\vdots

X_n

Y



1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.

Requisitos para un experimento

Variables independientes

Variables dependientes

2 variables: X, W

Niveles X : n

Niveles W : m

X_1

X_2

X_3

\vdots

X_n

W_1

W_2

W_3

\vdots

W_m

Y

A

B

\vdots



1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.

Requisitos para un experimento

Variables independientes

Variables dependientes

2 variables: X, W

Niveles X : n

Niveles W : m



Factorial:

hasta $n \times m$ interacciones

X_1

X_2

X_3

\vdots

X_n

W_1

W_2

W_3

\vdots

W_m

Y

A

B

\vdots



1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.

Requisitos para un experimento

Variable independiente

Variable dependiente

Diabetes₀

Amplitud de PMPM

Diabetes₁

1 variable: *Diabetes*

Niveles: 2



1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.

Requisitos para un experimento

Variable independiente

Diabetes₀
Diabetes₁

Variable dependiente

Amplitud de PMPM

1 variable: *Diabetes*

Niveles: 2

Variables independientes

Diabetes₀
Diabetes₁
Ejercicio₀
Ejercicio₁

Variables dependientes

Amplitud de PMPM
Glucosa
MET

2 variables: *Diabetes, Ejercicio*

Niveles Diabetes: 2

Niveles Ejercicio: 2



Factorial: $2 \times 2 = 4$ interacciones



2.- Que las variables sean medibles

Requisitos para un experimento

Asegurar la medición sea **adecuada, válida y confiable**.

Validez

La medición debe **reflejar con precisión** el fenómeno que se quiere estudiar. Existen varios tipos de validez, como:

- **Validez de contenido:** Asegura que la medición cubra todos los aspectos del concepto que se estudia.
- **Validez de criterio:** Compara la medición con un estándar o criterio ya validado.
- **Validez de constructo:** Evalúa si la medición está realmente midiendo el concepto teórico que se propone.

Confiabilidad

La medición debe ser **consistente y reproducible**. Esto implica que, si se repite el experimento o medición bajo las mismas condiciones, los resultados deberían ser muy similares.

- **Confiabilidad test-retest**
- **Confiabilidad interevaluador**



3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.



3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



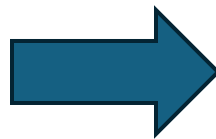
3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



Experimento

Se expone a la bacteria B al producto A



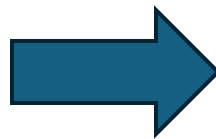
3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



Experimento

Se expone a la bacteria B al producto A

Observación 1

*La bacteria B **sobrevive** después de la exposición al producto A*



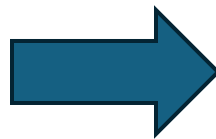
3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



Experimento

Se expone a la bacteria B al producto A

Observación 1

*La bacteria B **sobrevive** después de la exposición al producto A*

¿El producto A es efectivo?



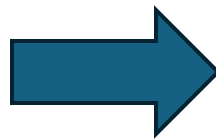
3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



Experimento

Se expone a la bacteria B al producto A

Observación 1

*La bacteria B **sobrevive** después de la exposición al producto A*

¿El producto A es efectivo?

¡NO!



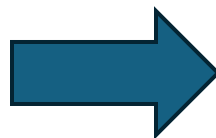
3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



Experimento

Se expone a la bacteria B al producto A

Observación 1

*La bacteria B **sobrevive** después de la exposición al producto A*

¿El producto A es efectivo?

¡NO!

Observación 2

*La bacteria B **no sobrevive** después de la exposición al producto A*



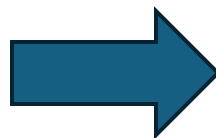
3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



Experimento

Se expone a la bacteria B al producto A

Observación 1

*La bacteria B **sobrevive** después de la exposición al producto A*

¿El producto A es efectivo?

¡NO!

Observación 2

*La bacteria B **no sobrevive** después de la exposición al producto A*

¿El producto A es efectivo?



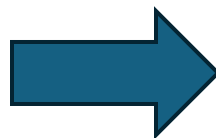
3.- Control o validez interna

Requisitos para un experimento

Si en el experimento se observa que una o más variables independientes hacen variar a las dependientes, la variación en la dependiente se debe a la manipulación de las primeras y no a otros factores o causas.

Suposición

El producto A elimina a las bacterias B



Experimento

Se expone a la bacteria B al producto A

Observación 1

*La bacteria B **sobrevive** después de la exposición al producto A*

¿El producto A es efectivo?

¡NO!

Observación 2

*La bacteria B **no sobrevive** después de la exposición al producto A*

¿El producto A es efectivo?

Probablemente...



Requisitos para un experimento

- 1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.
- 2.- Que la variables, dependiente e independiente, sean medibles.
- 3.- Control o validez interna





Requisitos para un experimento con animales

- 1.- Manipulación intencional de una o más variables independientes.
- 2.- Que la variables, dependiente e independiente, sean medibles.
- 3.- Control o validez interna
- 4.- Bienestar del animal (Bioética)
- 5.- Acuerdos internacionales (Acuerdos ARRIVE)

Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments



[Link ARRIVE guidelines](#)



Modelo de
diabetes
experimental

Diabetes

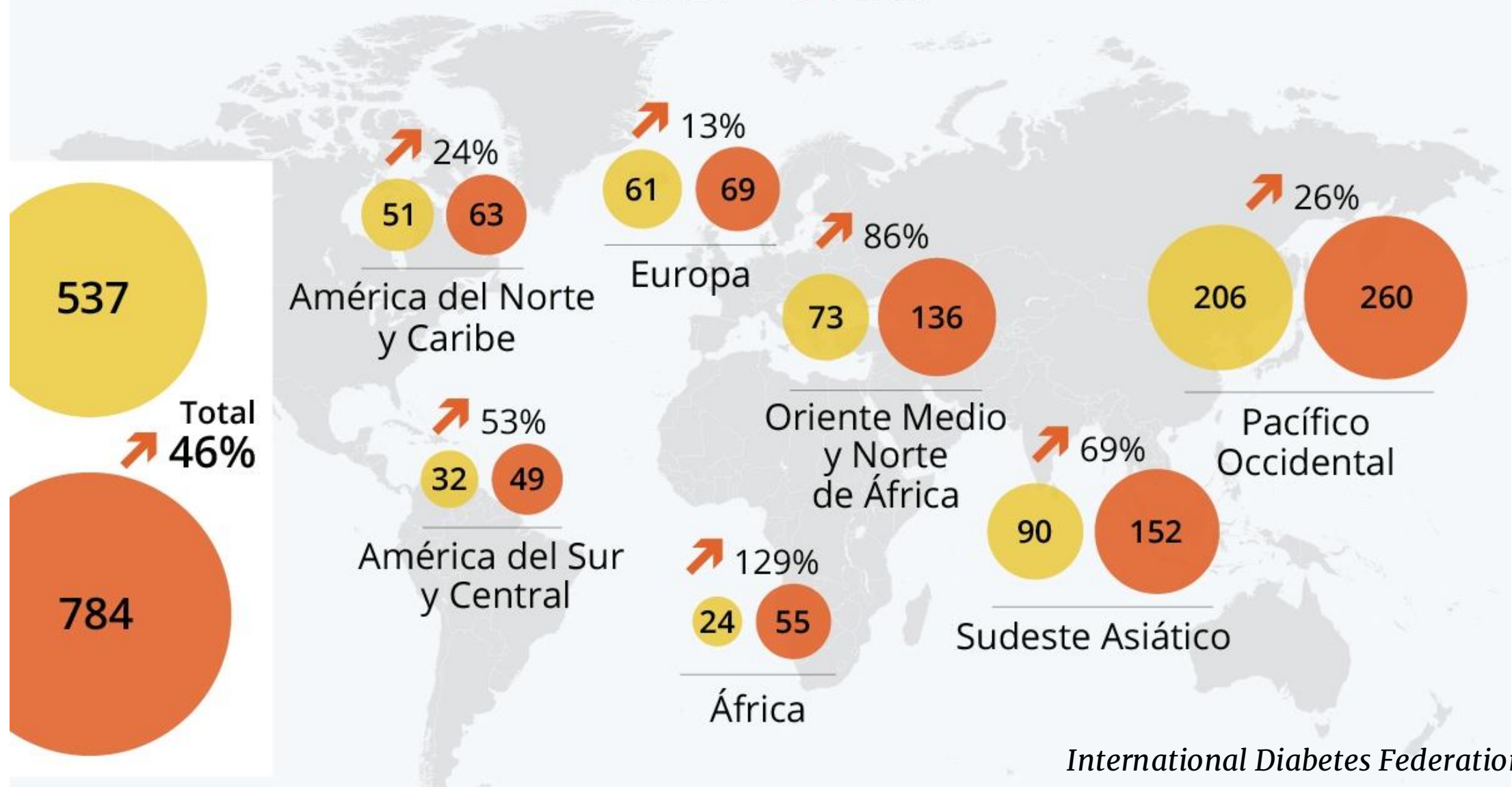


Enfermedad que ocurre cuando la glucosa en la sangre es demasiado alta: **mayor o igual a 126mg/dl**

- Alteraciones en metabolismo de glucosa
 - Deficiencia de insulina (tipo 1)
 - Resistencia a la insulina (tipo 2)
- Síntomas: poliuria, polifagia, polidipsia y pérdida de peso
- Largo plazo: daño en ojos, riñones, nervios y corazón

Estimación del número de adultos (20-79 años) con diabetes por región en 2021 y 2045 (en millones)

● 2021 ● 2045

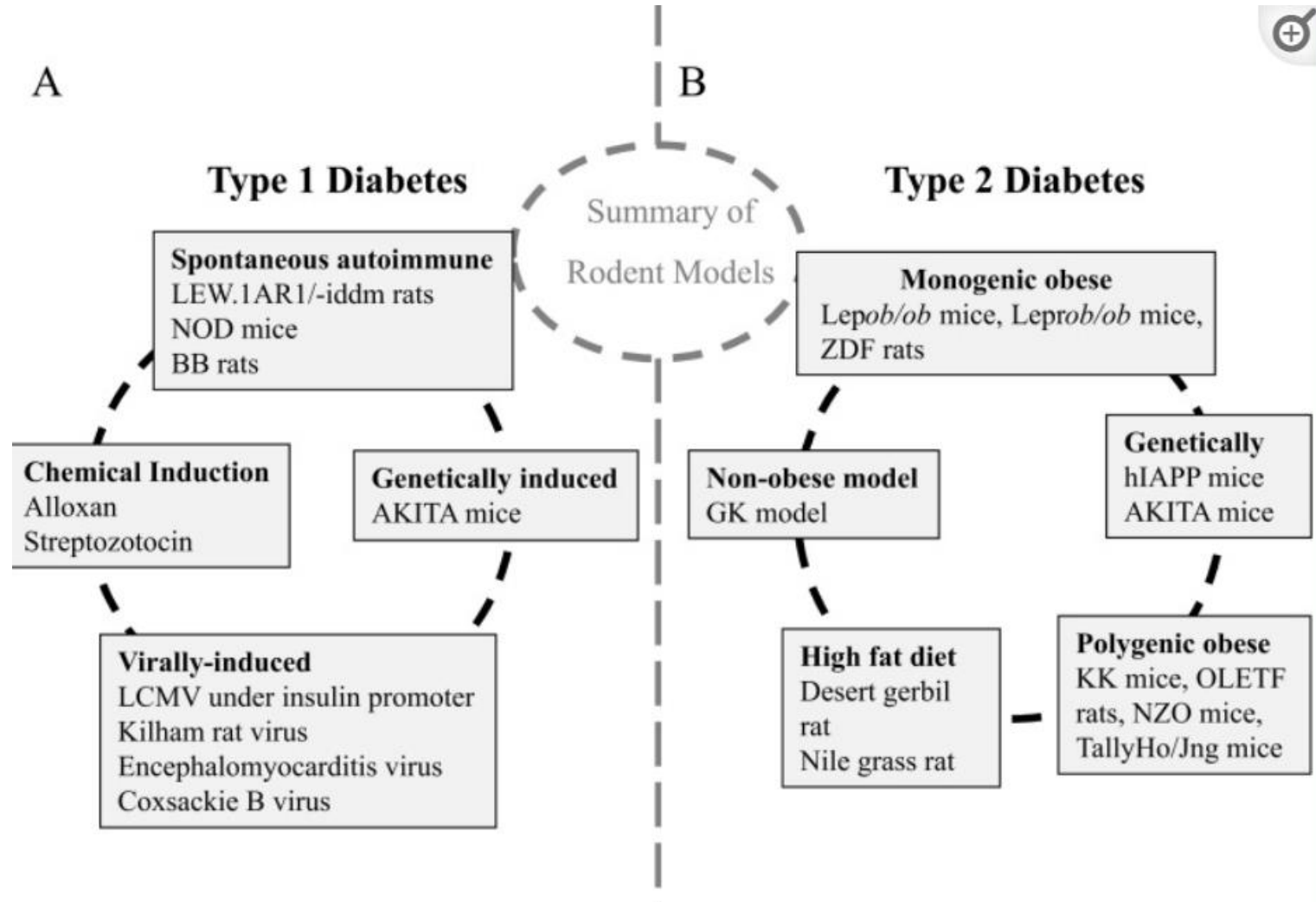


Modelo diabético

Gran importancia tanto en la investigación básica como en la preclínica

Ayudan a:

- comprender el mecanismo de la enfermedad
- evaluar nuevas terapias (monoterapia o terapia combinada) con potencial terapéutico



BB (BioBreeding)



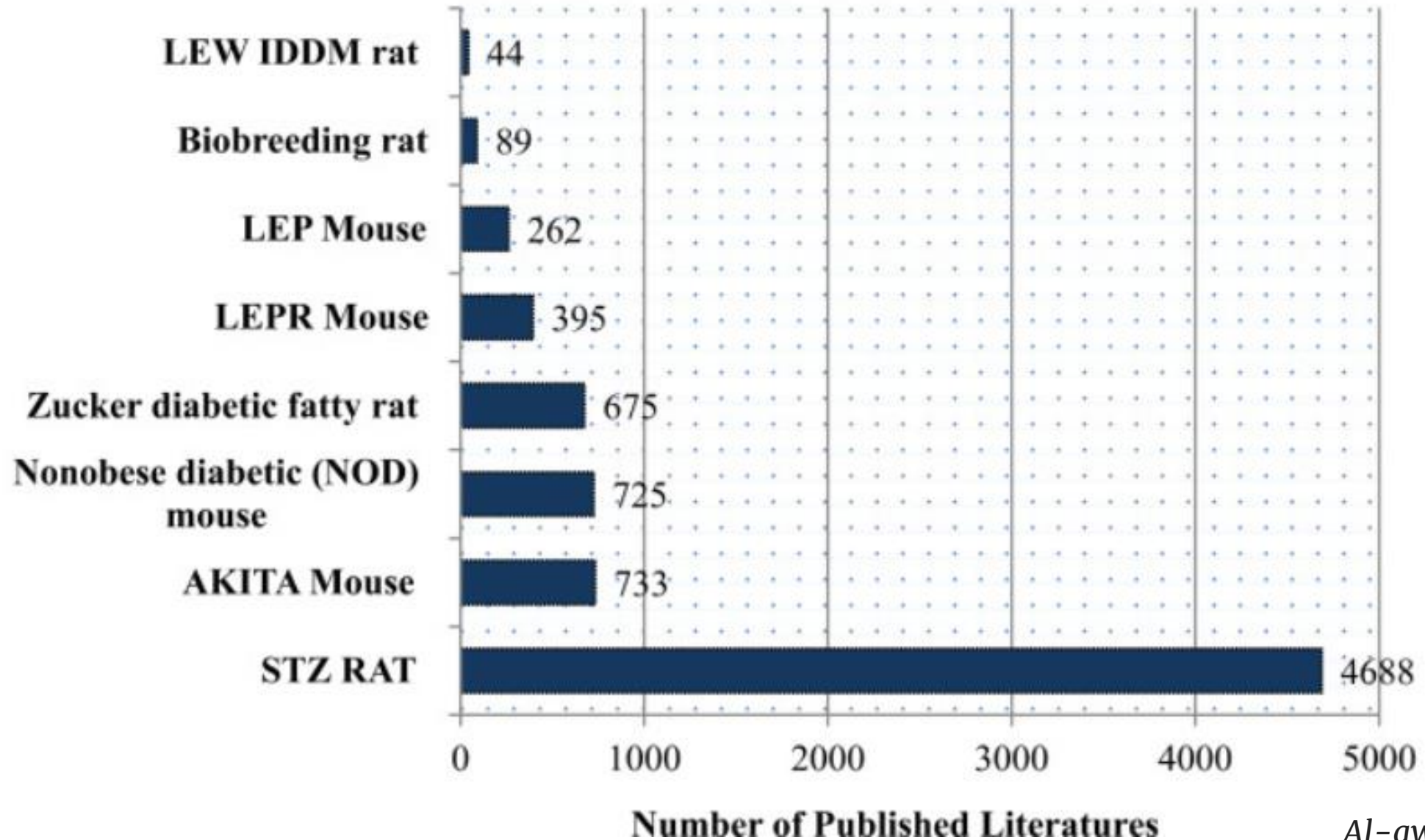
- Ratas Wistar exogámicas
- **Causa autoimmune espontánea**
- Desarrollo justo después de pubertad (entre 8 o 16 semanas de edad)
- Fenotipo: hiperglucemia, hipoinsulinemia, pérdida de peso y cetonuria
- **Desventaja:** linfopenia (T CD4+ y CD8+)

ZDF (Zucker Diabetic-Fatty)

- Producida en 1961 tras un cruce entre ratas *Merck* (cepa M) y *Sherman*
- Receptor de leptina mutado, induce hiperfagia, obesas a las 4 semanas de edad
- Hiperinsulinemia, hiperlipidemia, hipertensión y resistencia a insulina (T2DM)
- **Desventaja:** infertilidad en machos obesos

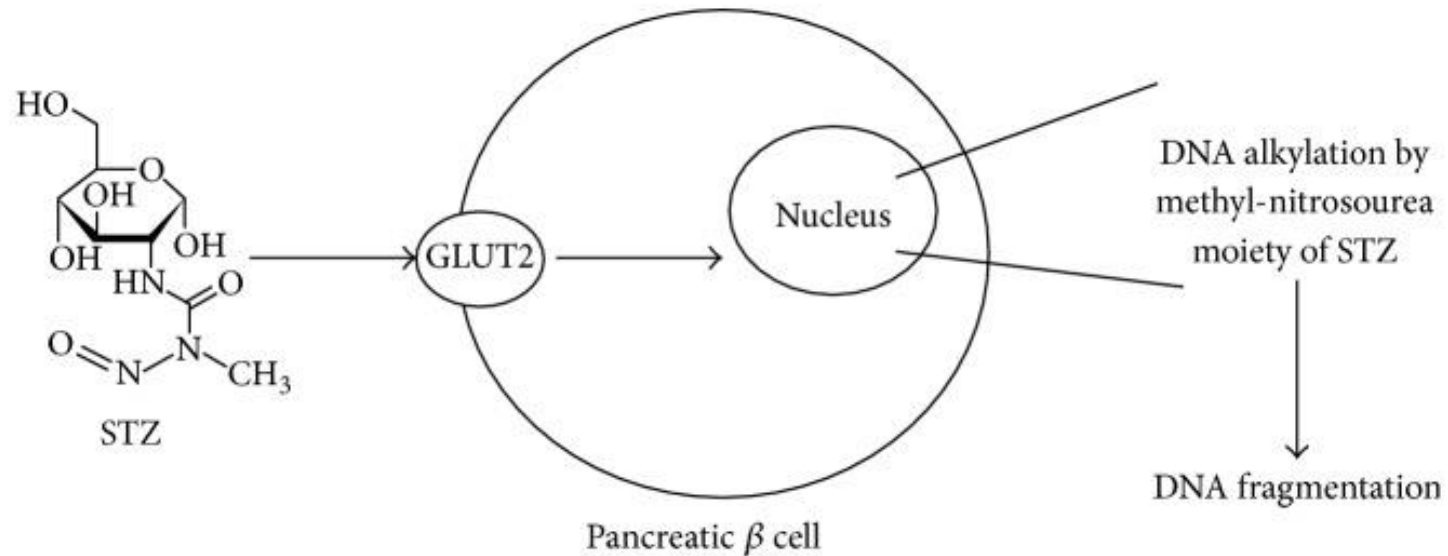


Diabetic Animals and PUBMED Publication (2009-2018)



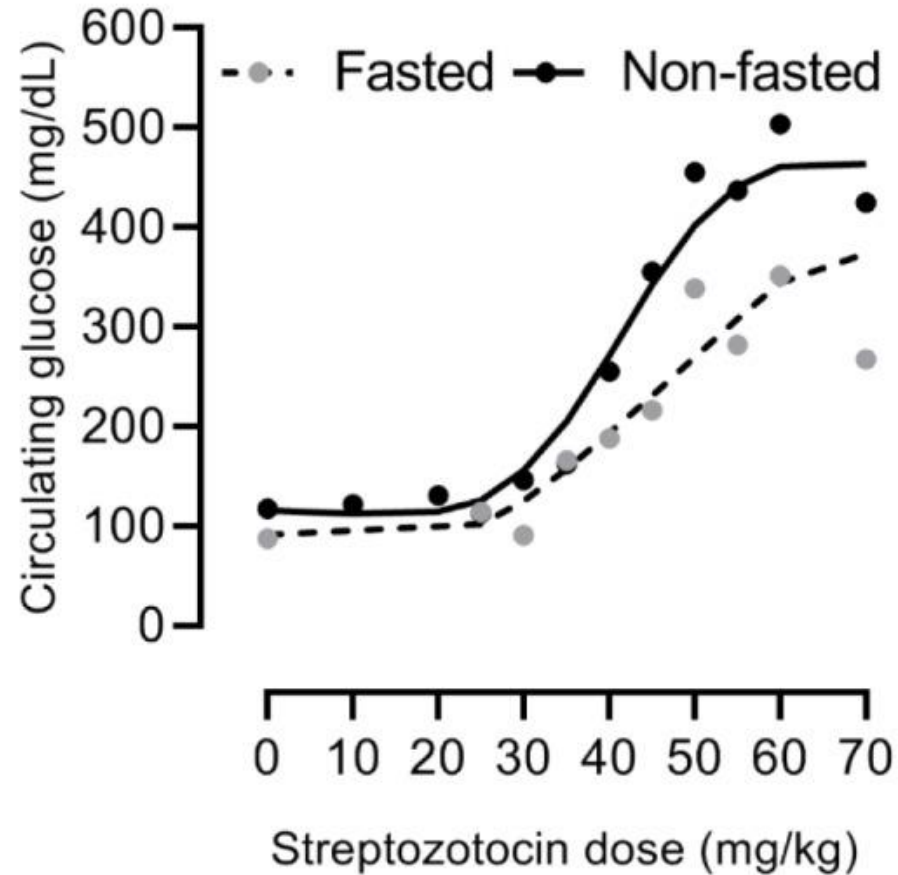
Inducción por estreptozotocina (STZ)

- Aislada inicialmente de *Streptomyces achromogenes* en 1960
- Agente citotóxico altamente selectivo de las células β de los islotes pancreáticos
- Dos partes: grupo **glucopiranosilo** y grupo **nitrosourea**
- Deficiencia/Resistencia a la insulina, hiperglucemia, poliuria y polidipsia

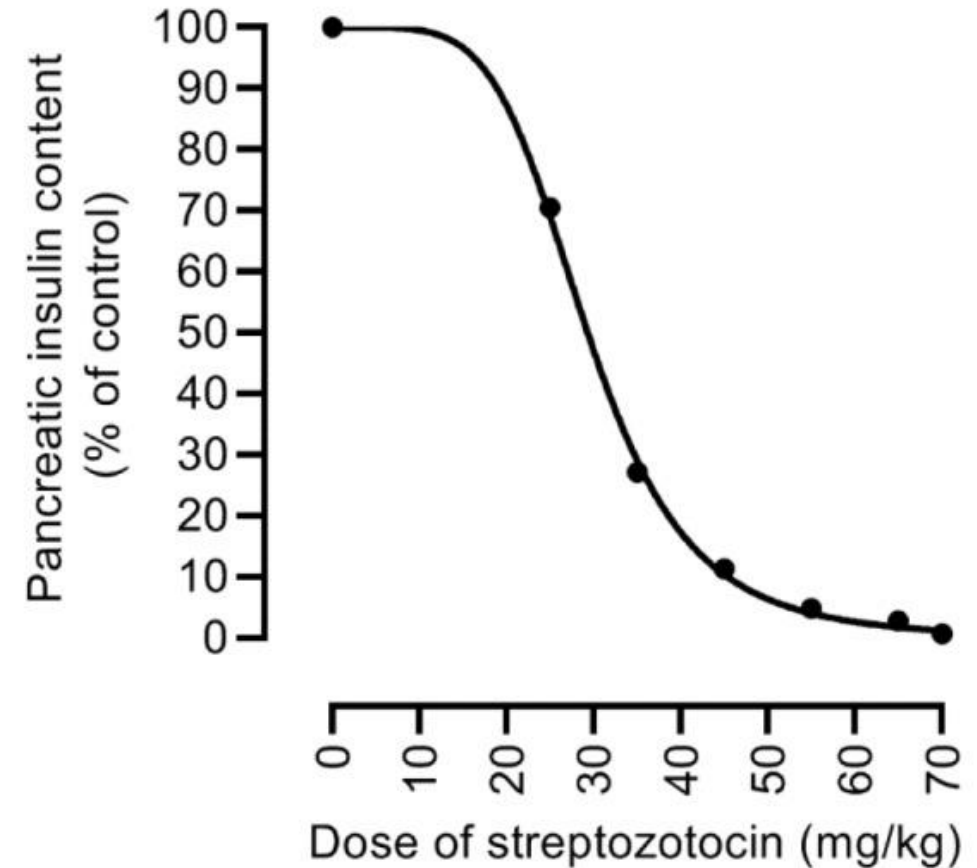


Dosis

Relación entre la dosis de estreptozotocina y glucosa circulante en ayunas



Relación entre la dosis de estreptozotocina y el contenido de insulina pancreática



	Sex	Strain	Intervention	Route of STZ administration	Reference
Type 1 diabetes					
Single high dose of STZ	Male	Wistar	STZ (50 and 60 mg/kg)	IV	Gajdosík et al., 1999
	Male	Sprague-Dawley	STZ (50, 60, and 70 mg/kg)	IV	Ar'Rajab and Ahrén, 1993
	Male/female	Wistar	STZ (40 mg/kg)	IP	Mythili et al., 2004
Multiple low-dose of STZ	Male	Sprague-Dawley	STZ (15 mg/kg for 5 days)	IV	Rossini et al., 1977a
Type 2 diabetes					
HFD/low-dose of STZ	Male	Sprague-Dawley	STZ (50 mg/kg) after two weeks on HFD (40 % of total kcal from fat)	IV	Reed et al., 2000
	Male	Sprague-Dawley	STZ (35 mg/kg) after two weeks on HFD (58 % of total kcal from fat)	IP	Srinivasan et al., 2005
STZ-NA	Male	Wistar	STZ (65 mg/kg) + NA (230 mg/kg, IP) 15 min before STZ injection	IV	Masiello et al., 1998
Neonatal STZ					
n0-STZ	NR	Sherman	100 mg/kg	IV	Portha et al., 1974
n2-STZ	Male	Sprague-Dawley	90 mg/kg	IP	Weir et al., 1981
n5-STZ	Male/female	Wistar	100 mg/kg	IP	Wang et al., 1996

HFD, high-fat diet; NA, nicotinamide; IV, intravenous injection; IP, intraperitoneal injection; n0-STZ, n2-STZ, and n5-STZ, streptozotocin-injected at the day of birth, two days after birth, and five days after birth, respectively.

Referencias

- International Diabetes Federation (2021). Epidemiology and research. Recuperado de: <https://idf.org/about-diabetes/diabetes-facts-figures/>
- Al-Awar, A., Kupai, K., Veszeka, M., Szűcs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., Török, S., Pósa, A., & Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of diabetes research*, 2016, 9051426. <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>
- Pandey, S., & Dvorakova, M. C. (2020). Future Perspective of Diabetic Animal Models. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, 20(1), 25–38. <https://doi.org/10.2174/1871530319666190626143832>
- Furman, B. L. (2021). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols*, 1, e78. doi: 10.1002/cpz1.78
- Ghasemi, A., & Jeddi, S. (2023). Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide. *EXCLI journal*, 22, 274–294. <https://doi.org/10.17179/excli2022-5720>

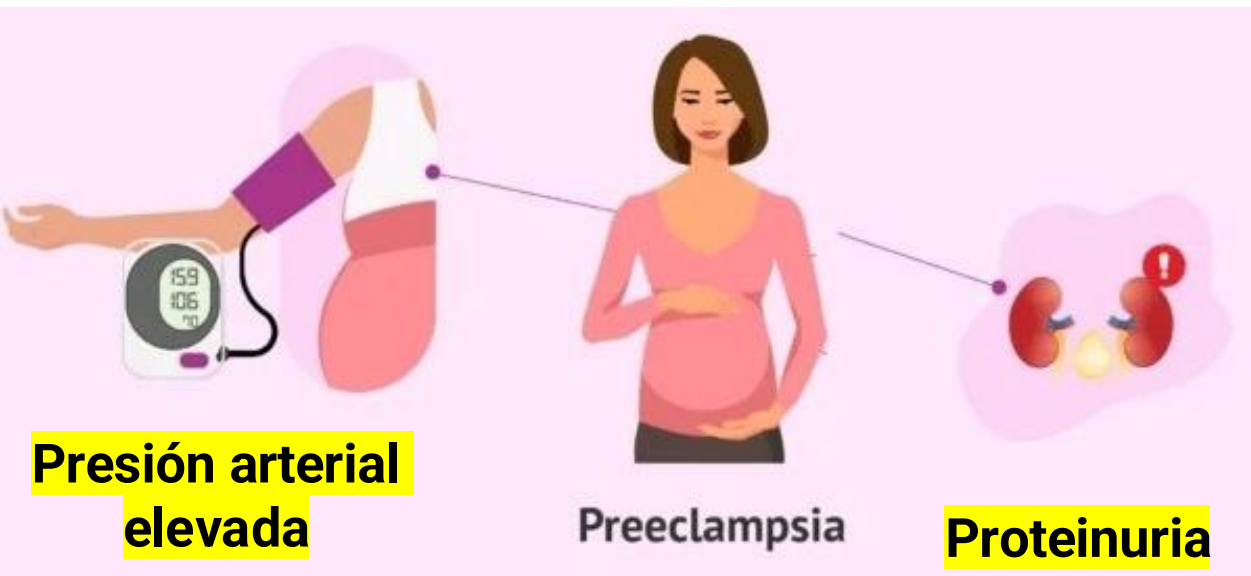
MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE LA PREECLAMPSIA



UNIVERSIDAD DE COLIMA

PREECLAMPSIA

Es un síndrome multisistémico del embarazo que se manifiesta después de la semana 20 de gestación.



Afecta entre el 3-8% de los embarazos a nivel mundial



Es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna y perinatal.

PATOGENIA DE LA PREECLAMPSIA

Factores de riesgo



Genéticos



Metabólicos



Inmunológicos



Ambientales



Alteraciones de la placenta

Reducción en la perfusión placentaria

Anormalidades en la angiogénesis

Estrés oxidativo

Inflamación sistémica

Disfunción endotelial



Proteinuria



Hipertensión

Preeclampsia



Restricción de crecimiento fetal

IMPORTANCIA DE LOS MODELOS ANIMALES

Proporcionan un sistema controlado y permiten la manipulación de variables.

1 Estudio de Mecanismos fisiológicos

Permite la investigación de los procesos celulares y moleculares implicados en la preeclampsia.

2 Prueba de Terapias

Evaluación de nuevos fármacos y terapias para prevenir o tratar la preeclampsia.







3 Modelado de Factores de Riesgo

Permite investigar el papel de factores genéticos, inmunológicos y ambientales

4 Desarrollo de diagnósticos

Permite investigar biomarcadores y métodos de detección temprana de la preeclampsia

ELECCIÓN DEL MODELO ANIMAL

-  Objetivo del estudio.
-  Similitud fisiológica con los humanos.
-  Facilidad de manejo.
-  Disponibilidad y Costo.
-  Métodos de evaluación y técnicas disponibles.
-  Regulación ética.

ANIMALES MÁS USADOS

Pequeños y ciclo de vida corto



Mayor tamaño,
facilidad para
intervención
quirúrgica y toma de
muestras.



Disponibilidad de
modelos transgénicos y
knockout .
Ideales para el estudio
de la genética y
respuesta inmune de la
preeclampsia.



Mayor parecido a la
fisiología humana,
ideal para estudiar
la placenta y el
desarrollo fetal.

Tipos de modelos animales

Sp	TIPO	MODELO	MÉTODO	VÍA IMPLICADA	ALTERACIONES	TERAPIAS PROBADAS
Rata	Quirúrgico	RUPP	Ligadura de arterias uterinas	Isquemia placentaria	↑MAP ↑proteinuria *FGR	Aspirina, Quercetina
Rata	Químico	L-NAME	Administración de L-Name	Disfunción endotelial		L-arginina
		TNF - α	Administración de TNF - α	Inflamación inmunitaria		Bloqueadores de vasoconstricción
Ratón	Genético	*ELABELA KO	Mutante de línea germinal	Placentación anormal		Antioxidantes
		BPH/5	Cruza selectiva	Preeclampsia espontánea		Tempol (antioxidante sintético)

MODELO L-NAME



L-NAME



eNOS



NO



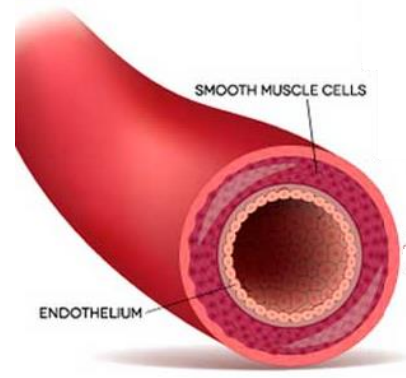
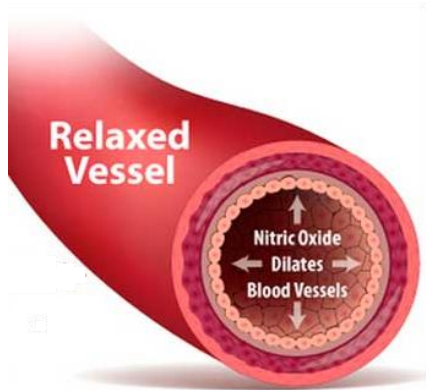
Vasoconstricción



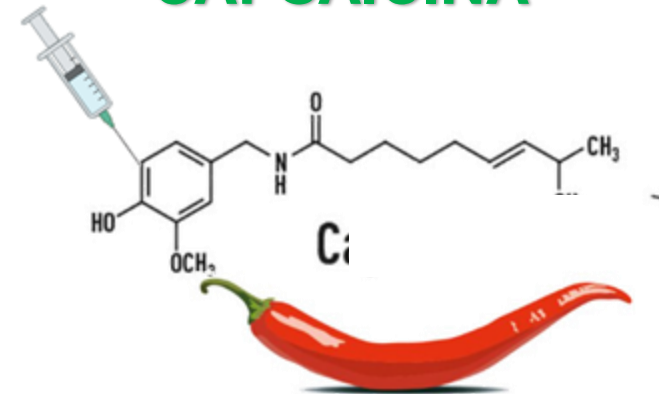
Ferroptosis



- Hipertensión
- Proteinuria

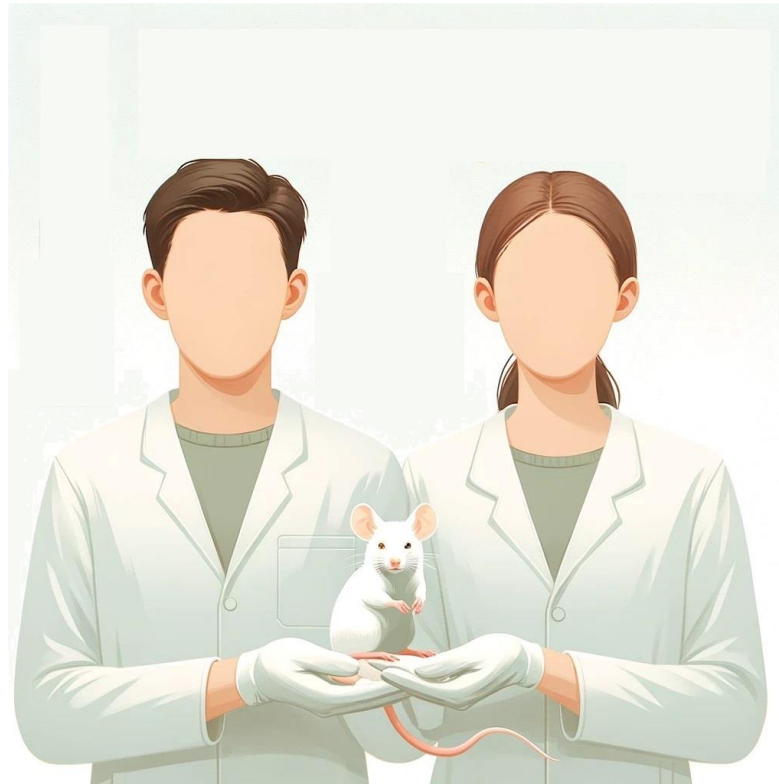


CAPSAICINA

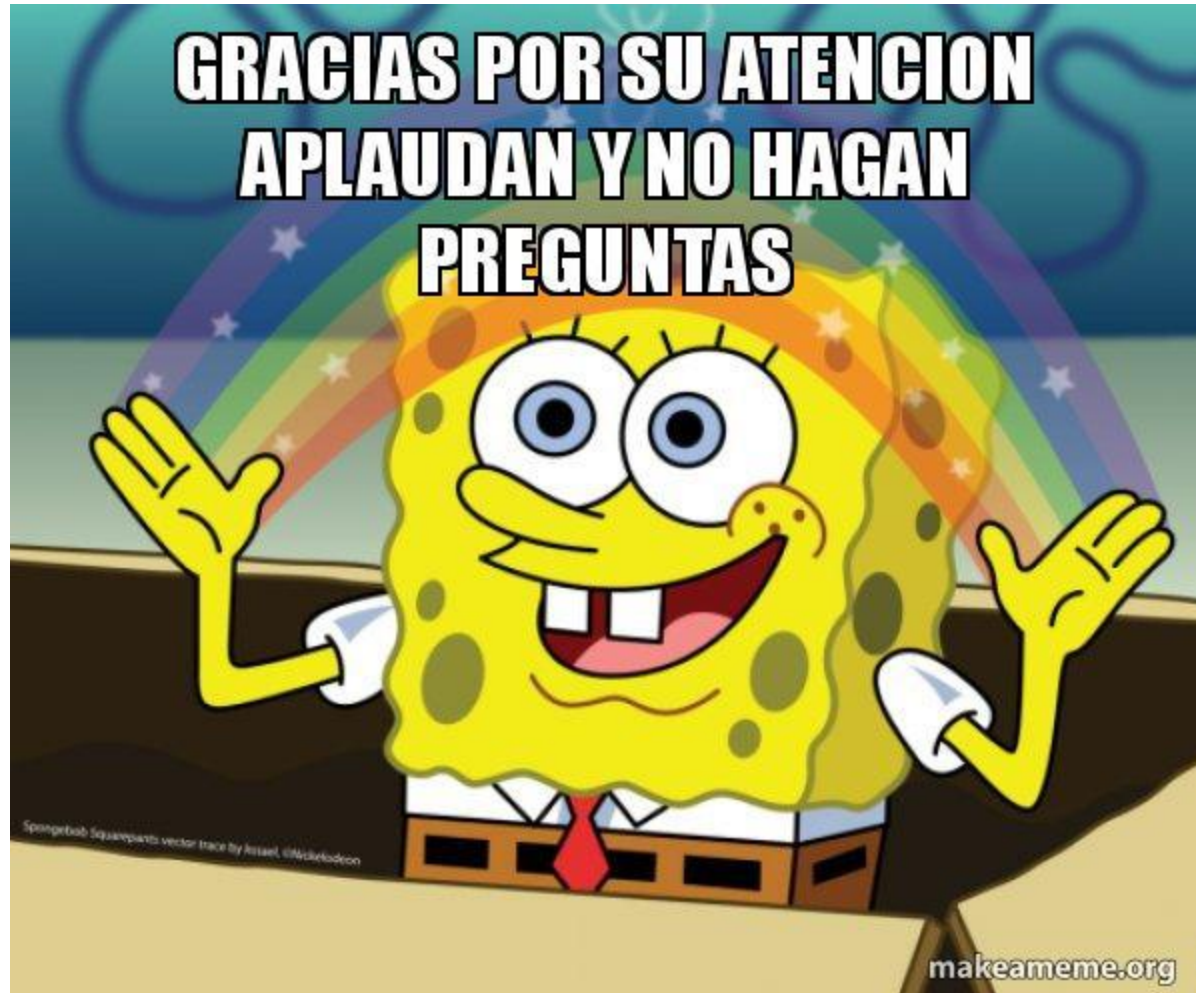


TRPV1

"Los modelos animales son una valiosa herramienta para investigar y comprender la etiología y fisiopatología de las enfermedades humanas y para el desarrollo de tratamientos y la creación de métodos de diagnóstico eficaces."



**GRACIAS POR SU ATENCION
APLAUDAN Y NO HAGAN
PREGUNTAS**



SpongeBob SquarePants vector trace by Asael, ©Nickelodeon

makeameme.org