

# Comunicación científica Congreso “Una sola salud”: Modelos animales para el estudio de SARS-CoV-2: ciencia a contrarreloj

Autor: Marta Cases Villar

## Introducción

Los coronavirus (CoV) son un grupo de virus ARN monocatenarios pertenecientes a la familia *Coronaviridae* [1] que infectan a una amplia gama de animales y humanos. Existen cuatro coronavirus humanos prevalentes (hCoV): HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 y HCoV-HKU1 [2], asociados con síntomas respiratorios leves. En las últimas dos décadas tres CoV zoonóticos han surgido causando mortalidad en seres humanos: el CoV del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV) en 2002, el CoV del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) en 2012 y el CoV del Síndrome Respiratorio Agudo Severo CoV-2 (SARS-CoV-2) en 2019 [3] responsable de la enfermedad COVID-19. Muchos de estos CoV tienen similitudes filogenéticas con hCoV, denotando su adaptabilidad para infectar nuevas especies [4]. Estos hallazgos añadidos a la capacidad de recombinación del SARS-CoV-2 [5], han instado a la comunidad científica a desarrollar modelos animales para estudiar la patogénesis de los CoV y el diseño de terapias eficaces. Los modelos animales son esenciales para comprender la replicación y los mecanismos patógenos de los CoV y constituyen un valioso activo en las fases preclínicas del desarrollo terapéutico. Exploramos y discutimos los diversos modelos animales en uso y los nuevos modelos animales y subproductos en desarrollo para debatir su idoneidad como modelos de estudio de SARS-CoV-2.

## Patología humana

La COVID-19 afecta mayormente a adultos [6] con una mayor prevalencia en hombres [7] y cursa con diversos síntomas [8]. La infección aguda por SARS-CoV-2 cursa con fiebre, dolor de cabeza, dificultad respiratoria, tos, dolor muscular, fatiga y trastornos gastrointestinales [9]. Los pulmones son los órganos más afectados por SARS-CoV-2; los signos patológicos más frecuentes incluyen hiperplasia de los neumocitos tipo de II y daño alveolar difuso [10]. El cuadro severo cursa con tromboembolismo, necrosis hepática multifocal, alteraciones miocárdicas, fallo renal y reacción inmunitaria exacerbada [11]. Algunos casos muestran alteraciones en el sistema nervioso central como pérdida del olfato y del gusto, alteraciones visuales, convulsiones e incluso encefalopatía hemorrágica necrotizante [12]. Las rutas de transmisión entre humanos incluyen la inhalación directa de gotas derivadas de estornudos o tos y contacto por vía oral, nasal y mucosa ocular [13].

## Modelos animales

### Ratón

La alta variabilidad sintomática entre individuos supone el mayor reto para diseñar un modelo animal óptimo para el estudio de SARS-CoV-2. El ratón es el modelo por excelencia en la investigación biomédica; presenta ventajas como su eficiente tasa reproductiva, manejo y amplia bibliografía disponible sobre el estudio de diversas enfermedades humanas. Sin embargo, los ratones presentan limitaciones fisiológicas para el estudio de la COVID-19: sus receptores de membrana necesarios para que el SARS-CoV-2 se una a las células pulmonares (ACE2) son diferentes a los humanos. Esto ha forzado a la comunidad científica a volcarse sobre otros modelos animales alternativos e implementar técnicas de edición génica como CRISPR/Cas9 (Tabla 1):

Los ratones transgénicos K-18hACE2 son capaces de expresar el receptor ACE2 humano (hACE2) y por tanto constituyen un modelo valioso en el estudio de la patogénesis de SARS-CoV-2 en comparación con los modelos de ratón convencionales. Por otro lado, ratones BALB/c transducidos con adenovirus conteniendo hACE2 son capaces de expresar hACE2 de manera estable en el tejido pulmonar [14]. A pesar de presentar limitaciones como la expresión de hACE2 en tejidos distintos a los identificados en humanos [15] o la incapacidad de replicar cuadros clínicos severos, estos modelos transgénicos manifiestan diversas ventajas para la investigación de los procesos patológicos de SARS-CoV-2.

### Primates no humanos (PHN)

Aunque ningún modelo animal captura todos los aspectos de la enfermedad clínica humana, mortalidad significativa, replicación viral y patología [16], los PHN desempeñan un papel vital como modelo animal para la investigación de enfermedades emergentes relacionadas con los CoV, previamente demostrado en el estudio de SARS-CoV y MERS-CoV, por sus similitudes genealógicas con los humanos: los géneros *Macaca* y *Chlorocebus* y las familias *Callitrichidae* y *Cebidae* son un estimado instrumento en la investigación de SARS-CoV-2 [17]. A pesar de que los PHN infectados con SARS-CoV-2 exhiben sintomatología leve, quedando lejos de representar la realidad clínica de los pacientes humanos, la similitud de su sistema inmunitario con el humano resulta de gran utilidad en el desarrollo de terapias inmunológicas como las vacunas.

### Hurón y hámster sirio

Para poder desarrollar terapias efectivas contra la COVID-19, es necesario comprender su virología y capacidad de infección intra- e interespecífica. Los hurones y el hámster sirio han resultado modelos de gran utilidad para este propósito. Los ACE2 de hurones contienen secuencias específicas para la unión de SARS-CoV-2; expresan signos clínicos y anatomopatológicos

similares a los humanos y son capaces de replicar el virus tras inoculación e infectar a animales control de la misma especie. Estudios recientes sugieren que los ACE2 del hámster sirio exhiben la mayor afinidad de unión a la glicoproteína S de SARS-CoV y SARS-CoV-2 de entre todas las especies animales distintas a la humana y el macaco Rhesus (90%) [18]. Los hámsteres infectados por SARS-CoV-2, además de cumplir con los postulados de Koch, son capaces infectar individuos control y los hallazgos patológicos asociados son similares a los observados en humanos infectados por SARS-CoV-2 [19], aunque no expresan la misma sintomatología clínica. Todo ello hace que estos modelos sean adecuados en el estudio de la patogénesis y transmisión de SARS-CoV-2.

### Lagomorfos, gatos y camélidos

Otros modelos como los lagomorfos o los gatos han evidenciado ser capaces de generar respuesta a anticuerpos neutralizantes. Mientras que los gatos son susceptibles a la infección experimental, cuestionando su papel como vector, y son capaces de infectar a animales control a través de gotas derivadas de estornudos o tos, los lagomorfos muestran potencial en el desarrollo de terapias inmunológicas: el receptor de unión de *Oryctolagus cuniculus* (con una similitud del 75% entre los aminoácidos de la proteína S de SARS-CoV y SARS-CoV-2 [20]) es capaz de generar respuesta a anticuerpos neutralizantes en individuos inmunizados contra SARS-CoV bloqueando eficazmente la unión de S1 a ACE2 [21], evidenciando el potencial de los lagomorfos como modelo para desarrollar vacunas de subunidades para la prevención de SARS-CoV y posiblemente SARS-CoV-2. A pesar de que no hay evidencia de la infección por SARS-CoV-2 en camélidos, los nano-anticuerpos de llama (VHH) suponen un candidato terapéutico en la investigación de hCoV capaz de neutralizar pseudovirus SARS-CoV-2 [22].

	Desarrollo de Vacuna	Infección	Sintomatología	Patología	
 Transgénico	Modelo apto: alta tasa viral en pulmones	No descrito	Compatible con cuadros leves en humanos (pérdida de peso, disminución de actividad). Dosis-dependiente: gravedad de síntomas aumenta con dosis infectiva.	Inflamación pulmonar, neumonía intersticial con infiltración macrofágica y linfocitaria en el intersticio alveolar, acumulación de macrófagos en la cavidad alveolar.	
 Convencional	No descrito	No descrito	No descrito	No descrito	
	Modelo apto: tasa viral similar a la humana	No descrito	Compatible con cuadros leves en humanos (disminución de la actividad, tos), adultos más afectados	Compatible con la observada en humanos con cuadro leve: neumonía intersticial, hiperplasia de neumocitos tipo II. Hepatitis multifocal observada en familia <i>Callitrichidae</i> .	
	Alta tasa viral	Infección a animales control mediante contacto directo e indirecto	Aumento de la temperatura corporal, estornudo, tos, fiebre letargia	Bronquiolitis aguda, perivascularitis y vasculitis linfoplasmocitaria, aumento de neumocitos tipo II, macrófagos y neutrófilos en el intersticio y el lumen alveolar.	
	No descrito	Infección a animales control	Sin síntomas, únicamente disminución de la actividad física descrita.	Patología similar a la observada en humanos: cambios histológicos compatibles con los observados en humanos, exudado pulmonar rico en proteínas, muerte celular, daño alveolar	
	Generación de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV	No descrito	No descrito	No descrito	
	No descrito	Transmisión por aerosol a animales control, animales jóvenes mas susceptibles a la infección.	No descrito	Mucosas nasal y traqueal y pulmones presentan lesiones	
	VHH neutralizan pseudovirus SARS-CoV-2	No descrito	No descrito	No descrito	

Tabla 1: Aplicaciones de los distintos modelos animales en el estudio de SARS-CoV-2.

### Conclusión

En la pandemia actual, el diseño de herramientas profilácticas y terapéuticas seguras y eficaces es una alta prioridad que requiere un modelo animal óptimo para el estudio de los procesos fisiopatológicos de SARS-CoV-2. Dada la diversidad de síntomas y hallazgos patológicos identificados en los distintos cuadros de COVID-19, sumada a la variabilidad entre grupos de edad y sexo, hallar un modelo animal adecuado es todo un desafío para la comunidad científica. La especificidad y el refinamiento de los objetivos experimentales son por tanto elementos básicos en el diseño experimental y juegan un papel esencial en la elección del modelo experimental. La combinación de modelos animales complementarios junto con modelos traslaciones como los estudios *ex-vivo* es fundamental para comprender los mecanismos implicados en la patogénesis y transmisión de SARS-CoV-2 que permitan obtener terapias eficaces.

## REFERENCIAS

### Comunicación científica Congreso “Una sola salud”: Modelos animales para el estudio de SARS-CoV-2: ciencia a contrarreloj

Autor: Marta Cases Villar

#### Anexo I: referencias

- [1] Yuan et al. (2020). Animal models for emerging coronavirus: progress and new insights. *Emerging Microbes & Infections*, 9:1, 949-961, DOI: 10.1080/22221751.2020.1764871.
- [2] Enjuanes et al. (2016). Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development. *Advances in Virus Research*, Volume 96, ISSN 0065-3527.
- [3] de Wit et al. (2016). SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nature Reviews. Microbiology*, 14(8):523-34, doi: 10.1038/nrmicro.2016.81.
- [4] Graham et al. (2013). A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nature Reviews. Microbiology*, 11(12):836-48, doi: 10.1038/nrmicro3143.
- [5] Yi (2020). 2019 novel coronavirus is undergoing active recombination. *Clinical infectious diseases*, 71(15):884-887, doi: 10.1093/cid/ciaa219.
- [6] Nikolich-Zugich et al. (2020). SARS-CoV-2 and COVID-19 in older adults: what we may expect regarding pathogenesis, immune responses, and outcomes. *Geroscience*, 42(2):505-514. doi:10.1007/s11357-020-00186-0.
- [7] Bwire (2020). Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women? *SN comprehensive clinical medicine*, 1-3, doi:10.1007/s42399-020-00341-w.
- [8] Esakandari et al. (2020). COVID-19 Outbreak and Consequent Delays in Schedules of the Breast Clinic: Effects on Patients' Breast and Emotional Symptoms. *European Journal of Breast Health*, 16(4): 250-254 DOI: 10.5152/ejbh.2020.5903.
- [9] Yuen et al. (2020). SARS-CoV-2 and COVID-19: The most important research questions. *Cell & Bioscience* 10:40. doi: 10.1186/s13578-020-00404-4.
- [10] Tian et al. (2020). Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell & molecular immunology*, 7(5):533-535, doi: 10.1038/s41423-020-0402-2.
- [11] Gattinoni et al. (2020). COVID-19 Does Not Lead to a "Typical" Acute Respiratory Distress Syndrome. *American Journal of respiratory and critical care medicine*, 201(10):1299-1300, doi: 10.1164/rccm.202003-0817LE.
- [12] Khatoon et al. (2020). Neurological manifestations of COVID-19: available evidences and a new paradigm. *Journal of Neurovirology*, (5):619-630. doi: 10.1007/s13365-020-00895-4. Epub 2020 Aug 24. PMID: 32839951; PMCID: PMC7444681.
- [13] Riou y Althaus (2020). Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020. *Euro surveillance*, 25(4): 2000058.
- [14] Hassan et al. (2020). A SARS-CoV-2 infection model in mice demonstrates protection by neutralizing antibodies. *Cell* 182, 744–753.e4.
- [15] Sun et al. (2020). A Mouse Model of SARS-CoV-2 Infection and Pathogenesis. *Cell Host & Microbe* 28, 124–133.
- [16] Roberts et al. (2008). Animal models and vaccines for SARS-CoV infection. *Virus research*, 133(1):20-32.
- [17] Lawler et al. (2006). *Cynomolgus Macaque as an Animal Model for Severe Acute Respiratory Syndrome*. *PLoS Medicine*, 3(5):e149.
- [18] Luan et al. (2020). SARS-CoV-2 spike protein favors ACE2 from Bovidae and Cricetidae. *Journal of Medical Virology* 1–8.
- [19] Chan et al. (2020). Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clinical infectious diseases*, ciaa325.
- [20] He et al. (2004). Receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein induces highly potent neutralizing antibodies: implication for developing subunit vaccine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 324, 773–781.
- [21] Gralinski y Menachery (2020). Return of the Coronavirus: 2019-nCoV. *Viruses* 2020, 12, 135; doi:10.3390/v12020135.
- [22] Wrapp et al. (2020). Structural Basis for Potent Neutralization of Betacoronaviruses by Single-Domain Camelid Antibodies. *Cell* 181, 1004–1015.