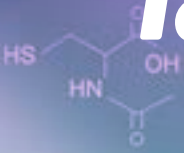




# Modernicemos la Investigación YA



Enormes cantidades de recursos públicos y privados destinados a la investigación **no han podido generar tratamientos eficaces para muchas de las enfermedades que matan e incapacitan a los humanos. Modernicemos la Investigación YA** ofrece una estrategia para revitalizar la investigación biomédica.



People for the Ethical Treatment of Animals (PETA) invita a **compartir y descargar el contenido de este documento** para uso personal y no comercial. Si desea utilizar cualquiera de los materiales del documento (textos, imágenes, fotografías, etc.) para cualquier otro fin, deberá obtener nuestro consentimiento expreso por escrito antes de hacerlo, contactándonos en [Info@peta.org](mailto:Info@peta.org).

# MODERNICEMOS LA INVESTIGACIÓN YA

## Resumen ejecutivo

Diversos estudios y análisis científicos revelan que los experimentos en animales no conducen a tratamientos efectivos ni a curas para las enfermedades humanas, incluidas las principales causas de muerte. Dependiendo de estudios en animales desvía fondos de áreas de investigación más prometedoras, retrasa el desarrollo de medicamentos y tratamientos eficaces y limita nuestra capacidad de proteger la salud humana y el ambiente.

No obstante, se siguen destinando cuantiosos recursos públicos a financiar experimentos en animales. Por ejemplo, los Institutos Nacionales de Salud de EE. UU. (NIH), que son la mayor agencia de financiamiento de investigación biomédica del mundo, emplean aproximadamente el 47% de su presupuesto en este tipo de pruebas. A nivel global, las agencias que financian la investigación biomédica aún no han implementado medidas eficaces para enfrentar los siguientes problemas:

- El 95% de los nuevos medicamentos que resultan seguros y efectivos en experimentos en animales fracasa en los ensayos clínicos en humanos.
- En ciertas áreas de investigación, más del 95% de los nuevos medicamentos desarrollados mediante experimentos en animales fracasa. Por ejemplo:
  - Enfermedad de Alzheimer .....99.6%
  - Cáncer .....96.6%
  - Vacuna contra el VIH .....100%
  - Accidente cerebrovascular .....100%
  - Septicemia .....100%
- El 90% de la investigación básica no conduce a ningún tratamiento para los humanos dentro de los 20 años siguientes.
- Hasta un 89% de los experimentos no se puede reproducir, aunque la reproducibilidad es un componente fundamental de la investigación científica.

Los métodos de investigación prometedores y relevantes para los humanos –como los órganos en chip, los usos sofisticados de las células madre humanas, la genómica y la proteómica, el diagnóstico por imágenes y el modelado por computador pueden reemplazar a los animales.

Para revitalizar la investigación biomédica y proteger la salud humana y el ambiente, PETA propone lo siguiente:

1. Eliminar el uso de animales en áreas de investigación en las que se ha demostrado que los animales son “modelos” deficientes de los humanos y su uso ha impedido el progreso científico y médico.
2. Realizar revisiones sistemáticas de la eficacia del uso de animales para identificar otras áreas en las que se dispone de métodos sin animales o en las que el uso de animales no ha logrado proteger la salud humana ni el ambiente y, por lo tanto, puede ponerse fin.
3. Redirigir los fondos de estudios en animales a métodos confiables sin animales.
4. Implementar un sistema de análisis de daños y beneficios para estudios en animales que considere los daños permanentes que se les causan e incluya una perspectiva ética.
5. Colaborar con organizaciones y agencias a nivel global para armonizar los métodos de prueba sin animales como requisitos de la evaluación regulatoria y promover su aceptación internacional.
6. Educar a la comunidad científica y a las agencias reguladoras sobre los beneficios de los métodos sin animales y cómo utilizarlos.

Esta transformación puede iniciarse hoy mismo. De no hacerlo, la investigación financiada por los contribuyentes no derivará en descubrimientos ni aplicaciones indispensables para proteger la salud humana y el ambiente.



# ÍNDICE

## Introducción

### **Limitado valor predictivo de la investigación que usa animales** 4

- Falta de validez 4
- Asignación inapropiada de recursos 6

### **Opinión pública y sintiencia animal** 7

### **Los mecanismos de control están fallando** 9

- Autorización negligente: Comités Institucionales para el Cuidado y Uso de Animales 9
- Las 3R son insuficientes 10

### **Oportunidades económicas** 10

- El alto costo del desarrollo de medicamentos 10
- Crecimiento económico y laboral en el sector tecnológico 11

### **Oportunidades para la toxicología reglamentaria** 13

### **Necesidad de un cambio de paradigma** 14

### **Liderazgo mundial** 14

### **Plan de acción: recomendaciones para modernizar la investigación biomédica** 15

1. Poner fin al uso de animales en áreas de investigación en las que se ha demostrado que los animales son “modelos” deficientes de los humanos y su uso ha impedido el progreso científico y médico. 15
2. Realizar revisiones sistemáticas de la eficacia del uso de animales para identificar otras áreas en las que se dispone de métodos sin animales o en las que el uso de animales no ha logrado proteger la salud humana ni el ambiente y, por lo tanto, puede ponerse fin. 15
3. Reasignar los fondos destinados a estudios en animales a métodos confiables sin animales. 16
4. Implementar un sistema de análisis de daños y beneficios para estudios en animales que considere los daños permanentes que se les causan e incluya una perspectiva ética. 16
5. Colaborar con organizaciones y agencias a nivel global para armonizar los métodos de prueba sin animales como requisitos de la evaluación regulatoria y promover su aceptación internacional. 17
6. Educar a la comunidad científica y a las agencias reguladoras sobre los beneficios de los métodos sin animales y cómo utilizarlos. 17

### **Conclusión** 18

### **Referencias** 19

### **Glosario** 23

### **Apéndices** 24

## Introducción

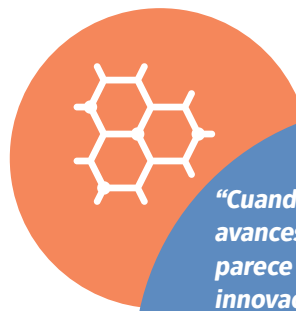
La observación (ver imagen a la derecha) realizada por el exitoso periodista científico Richard Harris resuena en quienes padecen una enfermedad incurable o conocen a alguien que la padece, y por una buena razón: miles de millones en fondos públicos y privados asignados a la investigación no están generando tratamientos efectivos para muchas de las enfermedades que matan e incapacitan a los humanos.

La principal razón de este fracaso es una confianza injustificada en los estudios en animales. Numerosas investigaciones científicas realizadas en las últimas décadas demuestran que los estudios en animales son deficientes y desvían recursos financieros e intelectuales que podrían invertirse en métodos confiables y relevantes. Las diferencias biológicas y genéticas intrínsecas entre especies generan problemas ineludibles a la hora de extrapolar los resultados de otros animales a los humanos, incluso en los estudios mejor diseñados, controlados y ejecutados.

Además de la creciente evidencia de que los experimentos en animales no pueden extrapolarse de forma confiable a los seres humanos y del aumento del desarrollo y la aplicación de tecnologías que pueden reemplazar el uso de animales en los laboratorios, la aceptación moral de los experimentos en animales por parte de la sociedad ha disminuido.

En este reporte detallamos las fallas de los experimentos en animales, mostramos cómo los sistemas existentes son insuficientes para corregirlas, ofrecemos un plan para reemplazar el uso de animales en experimentos, identificamos prioridades estratégicas y compartimos información sobre áreas en las que existen oportunidades para la sustitución inmediata del uso de animales.

© iStock.com/BushAlex



© iStock.com/lushik

*“Cuando leemos sobre los avances en medicina, a menudo parece que las tan esperadas innovaciones para el cáncer, la enfermedad de Alzheimer, los accidentes cerebrovasculares, la osteoartritis e innumerables enfermedades menos comunes están a la vuelta de la esquina, pero resulta que vivimos en un mundo con muchísimas esquinas”<sup>1</sup>*

## Limitado valor predictivo de la investigación que usa animales

Muchos integrantes de la comunidad científica son conscientes de las fallas de los experimentos en animales. Los Institutos Nacionales de Salud de EE. UU. (NIH) reconocen que los nuevos medicamentos fracasan “en aproximadamente el 95% de los estudios en humanos”<sup>2</sup>; a pesar de parecer seguros y efectivos en los experimentos preclínicos realizados en animales. Un análisis publicado en *The BMJ* en 2014 concluyó que los estudios realizados en animales no han ampliado los conocimientos en el campo de la salud humana ni han conducido al desarrollo de tratamientos para enfermedades que afectan a los humanos.<sup>3</sup>

### Falta de validez

Los problemas de validez interna y externa contribuyen al fracaso de los experimentos en animales en la transferencia de la investigación biomédica del laboratorio al paciente. La validez interna de los experimentos en animales se ve socavada por el diseño deficiente de los estudios, incluida la falta de aplicación de procesos para evitar sesgos, como el cegamiento, donde quienes realizan los experimentos o analizan los datos no saben si los animales o las muestras pertenecen al grupo de tratamiento o al de control. Se ha demostrado que la falta de controles para reducir el sesgo en los experimentos en animales probablemente da lugar a una sobrestimación de los beneficios del tratamiento estudiado y que este sesgo afecta la confiabilidad de los resultados, desperdicia recursos y no debería usarse para guiar ensayos clínicos en humanos.<sup>4,5</sup>

La escasa validez interna implica que muchos experimentos en animales no pueden reproducirse, lo cual es un aspecto fundamental del método científico relacionado con la validez potencial de un hallazgo. No sorprende, entonces, que una

investigación publicada en 2015 concluyera que entre el 18% y el 89% de toda la investigación preclínica, gran parte de la cual implica pruebas en animales, no se puede reproducir, lo que derrocha miles de millones de dólares al año en experimentos engañosos para la salud humana.<sup>6</sup> Incluso los NIH han reconocido que “la investigación preclínica, en especial la que usa modelos animales, parece ser el área más susceptible actualmente a los problemas de reproducibilidad”.<sup>7</sup>

Sin embargo, las falencias de los experimentos en animales no pueden superarse simplemente mejorando el diseño de los estudios, ya que la validez externa, o el “grado en que los hallazgos de la investigación en un entorno, población o especie pueden aplicarse de forma confiable a otros entornos, poblaciones y especies”,<sup>8</sup> nunca puede alcanzarse. Las diferencias inherentes entre las especies hacen que otros animales no funcionen como modelos análogos para comprender los mecanismos biológicos de las enfermedades y los efectos de los medicamentos en los humanos.

**“En promedio, los resultados extrapolados de estudios que usan decenas de millones de animales no logran predecir con exactitud las respuestas humanas”.<sup>9</sup>**

Por lo tanto, los experimentos en animales carecen de validez interna y externa. Es decir, suelen estar mal ejecutados. Pero, aunque se mejoraran los métodos experimentales, los resultados no podrían extrapolarse a los humanos.

En una publicación de 2018 en el *Journal of Translational Medicine*, Pandora Pound y Merel Ritskes-Hoitinga analizan las diferencias entre especies como un obstáculo insuperable para la validez externa de los modelos animales preclínicos.<sup>8</sup> Los intentos de controlar o corregir las diferencias entre especies dan lugar a lo que las autoras denominan el “círculo de extrapolación”: “si queremos determinar que un mecanismo en animales es lo suficientemente similar al mecanismo en humanos para justificar la extrapolación, debemos saber cómo funciona el mecanismo pertinente en los humanos. Pero si ya conocemos el mecanismo en los humanos, es probable que el estudio inicial en animales haya sido innecesario”.<sup>8</sup>

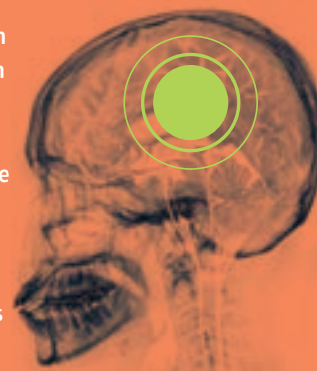
Pound y Ritskes-Hoitinga también cuestionan la preocupante tendencia entre quienes experimentan en animales a minimizar el problema de las diferencias entre especies y los efectos sobre la validez externa, algo que ha sido reconocido por varios investigadores.<sup>10,11</sup> Así, afirman que no sorprende el hecho de que se reste importancia a las diferencias entre especies, ya que no hacerlo obligaría a los experimentadores a enfrentarse a la “posibilidad de que el paradigma de la investigación preclínica en animales ya no tenga mucho que ofrecer”.<sup>8</sup> Cada vez hay más consenso científico sobre los aportes de los métodos de investigación sin animales, que son más adecuados para resolver las preguntas de investigación biomédica humana.

Las dificultades para extrapolar los datos obtenidos de una especie a otra se agravan por el confinamiento y las condiciones antinaturales de la vida en los laboratorios, incluidos el alojamiento,<sup>12,13</sup> la alimentación,<sup>14-16</sup> los ciclos de luz,<sup>17-20</sup> el ruido,<sup>17,21,22</sup> la temperatura y la humedad de las instalaciones<sup>23-27</sup>, que impiden que los animales exhiban un comportamiento natural.<sup>28-30</sup> Esta privación contribuye a que se estresen y altera su fisiología y neurobiología, lo que hace que presenten diversas morbilidades y psicopatologías no relacionadas con los experimentos en cuestión.<sup>14,18,29,31-36</sup> El hecho de que los animales confinados en laboratorios tengan su fisiología y neurobiología alteradas significa que ni siquiera serían buenos “modelos” para sus homólogos en la naturaleza. Un ratón en un laboratorio no responderá a un medicamento de la misma manera que un ratón silvestre. Entonces, hay que preguntarse lo siguiente: ¿cómo puede este ratón, biológicamente distinto, representar de forma confiable la biología humana?

**Las diferencias inherentes entre especies hacen que otros animales no funcionen como modelos análogos para comprender los efectos biológicos de los medicamentos y los compuestos químicos en los humanos.**

## Falta de éxito clínico

El fracaso de los estudios en animales en la investigación básica y aplicada es quizás más evidente en la serie de tratamientos aparentemente prometedores que no han funcionado en humanos. Por ejemplo, los experimentos de accidentes cerebrovasculares (ACV) en animales han sido un fracaso rotundo: 30 años de pruebas en animales no han logrado traducirse exitosamente en ningún medicamento que proteja contra los daños o repare el cerebro tras un ACV.<sup>37</sup> Décadas de experimentos en ratones y otros animales no han generado nuevos tratamientos o tecnologías de diagnóstico para los humanos con septicemia.<sup>38</sup> Los medicamentos oncológicos, que se someten a pruebas exhaustivas en animales, tienen un porcentaje de éxito de solo el 3,4%.<sup>39</sup> Esta es una constante en muchas áreas de investigación en enfermedades humanas.<sup>40</sup> Existe abundante bibliografía que documenta el fracaso de diversos modelos animales de enfermedades neurodegenerativas, afecciones neuropsiquiátricas y problemas de salud de la mujer, entre otros. (Los apéndices de este reporte contienen información sobre diversas áreas de investigación.)





## Asignación inapropiada de recursos

A pesar de la creciente evidencia de que los experimentos en animales desperdician recursos y pueden impedir el progreso médico, aproximadamente el 47% del presupuesto de los NIH, la mayor agencia financiadora de investigación biomédica en el mundo, se destina a dichos experimentos.<sup>41</sup> Los fondos públicos disponibles para la investigación biomédica son un recurso finito. En el año fiscal 2023, los NIH solo financiaron el 21,3% de los proyectos de investigación presentados.<sup>42</sup> Cada solicitud aprobada implica que otros proyectos no sean financiados, lo que supone un gran costo de oportunidad en términos de investigación relevante para los humanos que tiene el potencial para ayudar a los pacientes.

***“[S]i la investigación realizada en animales sigue siendo incapaz de predecir razonablemente lo que puede esperarse en los humanos, parece fuera de lugar que el público siga respaldando y financiando la investigación preclínica en animales”.***<sup>4</sup>

La investigación biomédica es financiada de acuerdo con sus tres categorías: básica, translacional y clínica. Los NIH definen la investigación básica como aquella que busca un “mayor conocimiento o comprensión de los aspectos fundamentales de fenómenos y hechos observables, sin aplicaciones específicas en mente para procesos o productos”.<sup>43</sup> Gran parte de la investigación básica implica experimentos en animales.

Los NIH consideran que la investigación básica, incluida la que

usa animales, es importante porque su objetivo es generar conocimientos básicos para comprender mejor las causas y los factores determinantes de las enfermedades en los humanos.<sup>44</sup> Es decir, los resultados del uso de animales en la investigación básica deben marcar el camino hacia la investigación translacional y clínica, que, a su vez, debe beneficiar a los humanos. Sin embargo, la evidencia demuestra que no es así. Para evaluar si se cumplía o no la promesa de la investigación biomédica básica, un estudio identificó 101 artículos publicados en las revistas médicas más prestigiosas, en los que los autores afirmaban explícitamente que su investigación conduciría a una nueva aplicación con potencial real para un avance clínico. La mayoría de los artículos analizados (el 63%) describía experimentos en animales. El estudio analizó la conversión de investigación básica en aplicaciones clínicas y encontró que menos del 10% de estos llamados hallazgos muy prometedores se incorporó al uso clínico en un lapso de 20 años.<sup>45</sup>

La investigación básica es un paso fundamental para generar conocimientos científicos primordiales. Sin embargo, cuando esos conocimientos no producen beneficios tangibles para los humanos (o para los animales heridos y asesinados en el proceso), la inversión y el apoyo continuos de la sociedad deben reevaluarse.

***En el sistema actual, introducir al mercado un nuevo medicamento puede costar hasta 2000 millones de dólares y demorarse hasta 15 años.***<sup>2</sup>

## Los peligros de los resultados engañosos



Muchos medicamentos nuevos no solo fracasan, lo que representa una enorme pérdida de tiempo y dinero, sino que perjudican a los humanos. En 2016, en el marco de un ensayo clínico de fase I, se administró por vía oral a voluntarios un fármaco destinado a tratar los problemas de humor, ansiedad y motricidad relacionados con enfermedades neurodegenerativas. Seis hombres entre 28 y 49 años padecieron reacciones tan adversas que tuvieron que ser hospitalizados. Un participante sufrió muerte cerebral y posteriormente falleció. Un informe sobre este incidente reveló que la toxicidad del fármaco en humanos “no se observó en animales a pesar de la administración de dosis muy elevadas”.<sup>46</sup>

TGN1412 es otro ejemplo trágico. “Tras [la] primera infusión de una dosis 500 veces menor que la considerada segura en los estudios en animales, los seis voluntarios humanos se enfrentaron a condiciones potencialmente mortales que implicaron el fallo de múltiples órganos, por lo que fueron trasladados a [la] unidad de cuidados intensivos”.<sup>47</sup> Cinco de los seis participantes permanecieron hospitalizados durante tres meses tras la dosis inicial, mientras que el otro quedó en

coma. Incluso seis meses después, los participantes padecían dolores de cabeza y pérdida de la memoria. A uno le tuvieron que amputar los dedos de los pies y de las manos a causa de la gangrena.<sup>48</sup>

También ocurre lo contrario: los tratamientos que no han funcionado bien en animales han sido archivados inútilmente, mientras los pacientes se quedan sin opciones que podrían salvarles la vida. Por ejemplo, la aspirina se usa de manera amplia en la medicina humana, pero podría no haber sido autorizada nunca si se hubiera probado primero en animales, en los que produce diversos efectos tóxicos que no se observan en humanos.<sup>49</sup>

El toxicólogo Thomas Hartung señaló varios ejemplos similares en su artículo de 2024, *The (misleading) role of animal models in drug development*:

Las lesiones hepáticas graves y las múltiples muertes forzaron la suspensión del ensayo de un medicamento contra la hepatitis B, a pesar de los datos prometedores iniciales obtenidos en animales. La sensibilidad diferencial de las especies a fármacos como el paracetamol resalta aún más el error de confiar en los modelos animales. Los vectores de terapia génica que han resultado seguros en pruebas en animales han causado insuficiencia hepática e inflamación cerebral en niños. Las vacunas contra el VIH, los tratamientos contra accidentes cerebrovasculares, los agentes contra las enfermedades inflamatorias y las terapias contra el Alzheimer han generado entusiasmo por los modelos animales, pero han fracasado rotundamente en los ensayos en humanos.<sup>50</sup>

## Opinión pública y sintiencia animal

La oposición pública al uso de animales en experimentos ha aumentado constantemente y alcanzó el 52% de la población estadounidense en 2018.<sup>51</sup> En 2024, Gallup reportó que el 46% de los estadounidenses consideraba que las pruebas biomédicas en animales eran “inmorales”, un aumento en comparación con el 32% registrado en 2004.<sup>52</sup> En otra encuesta, publicada en 2024 por el Animal-Human Policy Center de la Universidad Estatal de Colorado, cerca del 61% de las personas señaló que estaban “muy preocupadas o extremadamente preocupadas” por los animales usados en experimentación, y solo el 22,5% estaba “un poco o muy de acuerdo” con que las leyes de EE. UU. destinadas a proteger el bienestar de los animales usados en experimentación eran “robustas”.<sup>53</sup> En una tercera encuesta, publicada en 2024 y

realizada por Morning Consult, el 80% de las personas estuvo de acuerdo o muy de acuerdo con la afirmación “el gobierno de EE. UU. debería comprometerse con un plan para eliminar gradualmente los experimentos en animales”.<sup>54</sup> Además, alrededor del 85% estuvo de acuerdo con las dos afirmaciones siguientes: “la financiación gubernamental debe priorizar los métodos de investigación que no impliquen pruebas en animales” y “la experimentación en animales debe eliminarse gradualmente a favor de métodos de investigación más modernos”.<sup>54</sup>

El público aprueba aún menos el uso de animales cuando los experimentos son invasivos, cuando se consideran menos beneficiosos o necesarios para la salud humana (como en el caso de las pruebas de cosméticos) o cuando existen métodos sin animales.

La investigación ha revelado que las universidades y los medios de comunicación suelen exagerar los hallazgos de

los experimentos en animales, “promueven investigaciones que tienen una relevancia incierta para la salud humana y no proporcionan datos clave ni reconocen limitaciones importantes”.<sup>55</sup> Un estudio sobre la cobertura mediática de la investigación preclínica en animales encontró que los reportajes exageraban y, a menudo, insinuaban prematuramente “avances” inminentes relevantes para la medicina humana. “De 27 ‘descubrimientos’ únicos publicados, solo uno resultó claramente beneficioso para los humanos. Veinte se clasificaron como fracasos, tres no fueron concluyentes y tres fueron parcialmente exitosos”.<sup>56</sup> Un estudio publicado en 2021 encontró que el 69,5% de los artículos periodísticos que cubrían estudios sobre la enfermedad de Alzheimer omitía cualquier mención a los ratones en sus titulares y exageraba los hallazgos.<sup>57</sup> El uso de lenguaje engañoso en las noticias también se ha observado en la cobertura de enfermedades como la fibrosis quística<sup>58</sup> y la esclerosis múltiple.<sup>59</sup> Como los experimentadores rara vez publican los resultados de estudios fallidos en animales, otros científicos y el público carecen de acceso a la información sobre la ineficacia de la experimentación en animales. Si el público fuera plenamente consciente de la contundente evidencia de que el uso de animales puede estar obstaculizando el desarrollo de tratamientos eficaces, es probable que la oposición a estos experimentos aumentara de forma sustancial.

La minoría del público que sigue apoyando los experimentos en animales suele basar su apoyo en la creencia errónea de que las instancias de supervisión solo permiten estos experimentos si son esenciales para desarrollar tratamientos contra enfermedades humanas y si el beneficio para los humanos es superior al daño causado a los animales. Un estudio realizado en Turquía encontró que “más del 40% de los trabajos de investigación basados en modelos animales presentados en el congreso nacional de ortopedia de [dicho] país (con 83 millones de habitantes) en un período de 9 años nunca se publicó y, de aquellos que sí se publicaron, cerca del 40% nunca fue citado o se citó solo una vez. Toda esta carencia de impacto le costó la vida a más de 9400 animales”.<sup>60,61</sup> Un estudio divulgado en 2020 evaluó los artículos “publicados en las dos revistas clínicas con mayor factor de impacto en cada una de las 10 especialidades quirúrgicas” y encontró que “la cantidad promedio de citas de artículos de investigación en animales por parte de investigaciones humanas/clínicas posteriores en un período de 10 años era solo una (con cinco como la cantidad más alta del rango), lo que sugiere una traslación mínima de los estudios en animales a la investigación en humanos”.<sup>60,62</sup>

El reconocimiento de la sintiencia animal también ha influido en la creciente oposición del público a los experimentos en animales. Esto es especialmente cierto en el caso de las especies con las que los humanos comparten su hogar (p. ej., perros y gatos) y aquellas que se perciben como poseedoras de mayores capacidades cognitivas (p. ej., primates). Sin embargo, también ha aumentado la preocupación pública por otras especies. Filósofos y especialistas en bioética han subrayado que los puntos

de vista modernos sobre el bienestar animal priorizan la sintiencia como componente central de las consideraciones éticas en la experimentación en animales.<sup>63</sup>

El estado actual de la investigación sobre la sintiencia de cefalópodos, decápodos e insectos<sup>64–67</sup> ha llevado a muchos países, como Australia, Canadá, Noruega, Suiza, el Reino Unido y aquellos de la Unión Europea, a actualizar sus leyes de bienestar animal. En EE. UU., los NIH han solicitado la opinión de la comunidad científica y del público para establecer directrices sobre el uso de cefalópodos en experimentos<sup>68</sup> y señalan que hay una “creciente evidencia [...] de que los cefalópodos poseen muchos de los mecanismos biológicos necesarios para la percepción del dolor”.<sup>69</sup>

Estudios recientes han demostrado que muchos animales, además de sentir dolor y sufrir física y psicológicamente, muestran empatía, autoconciencia, capacidades similares al lenguaje, inteligencia relacionada con el uso de herramientas, comportamientos de búsqueda de placer y habilidades avanzadas para resolver problemas.<sup>70,71</sup> Estos hallazgos han impulsado a personas en el ámbito académico, así como a intelectuales, filósofos y especialistas en ética a promover la consideración de la sintiencia y la conciencia de los animales en la toma de decisiones sobre cómo tratarlos en la ciencia y otros ámbitos. Por ejemplo:

- La Declaración de Nueva York sobre Conciencia Animal de 2024 cita evidencia empírica de “una posibilidad realista de experiencia consciente en todos los vertebrados (incluidos reptiles, anfibios y peces) y muchos invertebrados (incluidos, como mínimo, moluscos cefalópodos, crustáceos decápodos e insectos)”, y pide considerar dicha evidencia como parte del proceso de toma de decisiones sobre bienestar animal.<sup>72</sup>
- En 2015, más de 150 académicos, intelectuales y escritores respaldaron un informe del Centro de Ética Animal de Oxford que condenaba los experimentos en animales como indefendibles moral y científicamente. “El maltrato deliberado y rutinario de animales inocentes y sintientes que implica daño, dolor, sufrimiento, confinamiento estresante, manipulación, comercio y muerte, debería ser impensable. Sin embargo, la experimentación en animales es precisamente eso: la ‘normalización de lo impensable’”.<sup>73</sup> Los autores del reporte concluyen que experimentar en animales contradice lo que ahora sabemos sobre la capacidad de los animales para sentir no solo dolor, sino miedo, ansiedad, estrés, angustia y terror, entre otras emociones.
- En 2012, un grupo internacional de personas destacadas en las neurociencias publicó la Declaración de Cambridge sobre la Conciencia, que afirma de manera categórica que “los humanos no son los únicos que poseen los sustratos neurológicos que generan la conciencia” y que, al igual que los humanos, “los animales no humanos tienen [...] la capacidad de mostrar comportamientos intencionales”.<sup>74</sup>

Las estadísticas sobre el fracaso de la extrapolación dejan claro que los animales no son sustitutos adecuados de los humanos

en la investigación biomédica. Sin embargo, cuando se trata de su capacidad de sufrimiento, ¿cuánto tienen que parecerse a los humanos para que se considere obligatoria una revisión crítica de la investigación en animales?

**“La ciencia está demostrando que otros animales son como nosotros en aspectos moralmente relevantes, pero distintos a nosotros en aspectos médicamente relevantes”.<sup>75</sup>**

## Los mecanismos de control están fallando: el ejemplo de EE. UU.

Se calcula que EE. UU. es uno de los países donde se usan más animales en experimentación,<sup>76</sup> pero la falta de información transparente en este sentido hace imposible conocer las cifras exactas. A pesar de que existen leyes y comités destinados a proteger a los animales en los laboratorios, ningún experimento está prohibido sin importar cuánto daño cause. Marcos éticos anticuados e incompletos, normas de cuidado y bienestar insuficientes, aplicación laxa de las regulaciones, comités inoperantes y la exclusión del 95% al 99% de los animales usados en experimentación<sup>77</sup> de la normativa aplicable definen la realidad del uso de animales en los laboratorios estadounidenses.

La Ley Federal de Bienestar Animal (AWA) y la Ley de Extensión de la Investigación Sanitaria de 1985 (HREA) son las únicas dos leyes federales que establecen estándares mínimos para el trato de los animales en los laboratorios de EE. UU. Ambas leyes son deficientes y existen problemas críticos que dificultan su eficacia.

La AWA no cubre a la gran mayoría de los animales usados en laboratorios de EE. UU. Esto incluye aproximadamente 111 millones de ratas y ratones,<sup>77</sup> y millones de peces, cangrejos herradura, ranas, cefalópodos, tortugas, aves criadas con fines específicos y otros animales criados como fuente de alimentación y fibra, quienes no están reconocidos como “animales” por la ley.<sup>78</sup> Mientras tanto, la HREA solo se aplica a las instituciones que reciben financiación de los contribuyentes proveniente de las agencias federales de salud de EE. UU., como los NIH,<sup>79</sup> lo que deja sin protección legal a los animales usados en instituciones financiadas por otras fuentes. Aunque algunos estados de EE. UU. tienen leyes contra la crueldad hacia los animales, la mayoría excluye a aquellos usados en experimentación.<sup>80</sup>

Ninguna de las dos leyes federales obliga a los experimentadores a evitar el uso innecesario de animales o a contemplar la posibilidad de sustituirlos por un método sin animales, sino solo a haber *considerado* alternativas a los procedimientos nocivos específicos que planean llevar a cabo. Sin embargo, el requisito de buscar procedimientos que causen menos daño o angustia no se hace cumplir de manera consistente.

Mejorar la supervisión reduciría significativamente el daño a los animales, pero no resolvería el problema. Abandonar por completo el uso de animales eliminaría la necesidad de una regulación más estricta de su uso y protegería el bienestar tanto de los humanos como de otros animales.

## Autorización negligente: los Comités Institucionales para el Cuidado y Uso de Animales en EE. UU.

Los Comités Institucionales para el Cuidado y Uso de Animales (IACUC), creados en EE. UU. como respuesta al clamor público por los casos de crueldad contra los animales confinados en laboratorios, se establecieron con la intención de garantizar que las instituciones que usan animales en experimentación cumplieran la AWA. Se esperaba “que instancias como [estos] comités éticos asumieran la responsabilidad social corporativa actuando como vigilantes de los experimentos en animales.”<sup>81</sup>

En la práctica, los IACUC carecen de la diversidad ética y científica necesaria para abordar con eficacia la creciente preocupación por el bienestar animal y la capacidad de evitar el uso de animales.<sup>82</sup> Un estudio publicado en 2012 reveló que, en promedio, los miembros de los IACUC en las principales instituciones financiadas por los NIH eran predominantemente experimentadores en animales.<sup>83</sup> De acuerdo con dicho estudio, la “abrumadora presencia de investigación en animales e intereses institucionales puede diluir el aporte de los pocos miembros de los IACUC que representan el bienestar animal y al público en general, contribuir al sesgo previamente documentado del comité a favor de la aprobación de experimentos en animales y reducir la objetividad y eficacia general del sistema de supervisión”.<sup>83</sup>

La ambigüedad del lenguaje legislativo y la escasa supervisión de los IACUC han generado inconsistencias en la implementación y la eficacia de las regulaciones. Múltiples auditorías de la Oficina del Inspector General de los EE. UU. (OIG) y encuestas internas han demostrado las deficiencias de los IACUC.

- En 1995, la OIG descubrió que los IACUC no podían garantizar que los experimentadores buscaran alternativas a procedimientos dañinos ni que los estudios propuestos no duplicaran innecesariamente experimentos anteriores.<sup>84</sup>
- Una encuesta realizada en el año 2000 por el Departamento de Agricultura de EE. UU. (USDA) a los inspectores de laboratorios de la agencia encontró que el área más problemática para los IACUC era la búsqueda de alternativas a procedimientos dañinos, y reveló que “entre 600 y 800 instalaciones han tenido problemas con la búsqueda de alternativas”. Los inspectores del USDA también consideraron que la “influencia indebida” de los investigadores principales era un problema para los IACUC.<sup>85</sup>
- En 2005, la OIG publicó un informe de auditoría en el que volvió a resaltar estas dificultades y señaló los continuos “problemas con la búsqueda de alternativas de investigación, la atención veterinaria, la revisión de procedimientos dolorosos y el uso de animales por parte de los investigadores”.<sup>86</sup>

- En la auditoría publicada en 2014, la OIG advirtió que los IACUC “no siempre supervisan adecuadamente los procedimientos experimentales en animales”, lo que resulta en una “garantía reducida de que los protocolos se completen, aprueben y cumplan correctamente, y que los animales siempre reciban cuidados y tratamientos compasivos básicos”.<sup>87</sup> Estos resultados coinciden con los hallazgos del USDA: entre 2009 y 2011, sus inspectores documentaron 1379 infracciones en 531 instalaciones relacionadas con la revisión y supervisión inadecuadas del uso de animales por parte de los IACUC.<sup>87</sup>

Muy poco ha cambiado desde entonces. La iniciativa más reciente de los NIH para mejorar tanto el rigor como la reproducibilidad en la investigación no abordó los innumerables problemas con los IACUC y sus procesos de revisión.<sup>88</sup>

Una de las principales fallas en la supervisión de los experimentos en animales en EE. UU. es que no hay ningún punto en el proceso de aprobación de protocolos en el que se considere el daño que sufrirán los animales frente a los beneficios esperados de la investigación. Aunque las instancias de supervisión afirman adherirse a las políticas que exigen la realización de un análisis de daños y beneficios,<sup>89,90</sup> quienes evalúan el daño son distintos a quienes evalúan el beneficio, y no hay ningún intento de equilibrar sus decisiones. Los IACUC revisan el daño que se infligirá a los animales cubiertos por la AWA o incluidos en protocolos financiados por los NIH, mientras que los comités de financiación evalúan el posible beneficio de los experimentos para el área de investigación. Estos comités funcionan de distinta forma, no comparten sus opiniones entre sí y solo emiten decisiones dicotómicas (aprobado o rechazado), lo que da lugar a un sistema de evaluación fragmentado e incompleto.

## Las 3R son insuficientes

Las 3R (reemplazo, reducción y refinamiento del uso de animales) han sido durante mucho tiempo el marco ético que ha guiado el uso de animales en la investigación biomédica en todo el mundo. Introducidas por William Russell y Rex Burch en su libro de 1959, *The Principles of Humane Experimental Technique*,<sup>91</sup> las 3R han sido fuertemente criticadas en los últimos años por su incapacidad para evitar daños innecesarios a los animales, dado que su enfoque se limita a la ética procedimental, en lugar de abordar los problemas sociales y morales más amplios en torno a la investigación en animales. Algunos expertos sostienen que los principios no abarcan adecuadamente las complejidades del bienestar animal y las consideraciones éticas en la investigación.<sup>92-94</sup> Otros argumentan que, aunque las 3R pueden haber sido adecuadas para su época, la ciencia ha avanzado mucho desde su concepción, lo que hace necesaria una actualización.<sup>95-97</sup>

Lo que está claro es que las 3R no han tenido éxito. En contravía de los principios de reducción y refinamiento, actualmente se usan más animales en experimentación que cuando se publicó el modelo de las 3R<sup>76,77,98,99</sup> y se siguen usando en procedimientos

## Métodos de investigación biomédica sin animales

Varios métodos basados en células y tejidos humanos y modelos computarizados, entre otros, pueden ser usados en la investigación biomédica básica, traslacional y preclínica. Estos son solo algunos ejemplos:



angustiantes y dañinos. La creación de centros de 3R en todo el mundo<sup>100</sup> no ha frenado eficazmente el uso de decenas de millones de animales en experimentos ni ha impedido que se usen animales en experimentos con pocas posibilidades de generar beneficios tangibles para la salud humana.

## Oportunidades económicas

### El alto costo del desarrollo de medicamentos

Al abandonar los experimentos en animales y adoptar métodos científicos avanzados, los países tienen la oportunidad de impulsar la investigación biomédica, aumentar rápidamente el crecimiento del empleo en ciencia y tecnología y reducir los costos de la

atención en salud. Como se señala en el informe *Animal Testing and Its Alternatives—the Most Important Omics Is Economics*, “una economía de enfoques alternativos se ha desarrollado y supera a las pruebas tradicionales en animales”.<sup>101</sup>

En el sistema actual, el proceso para introducir un nuevo medicamento en el mercado puede costar hasta 2000 millones de dólares y tardar hasta 15 años.<sup>2</sup> Los elevados costos de investigación y desarrollo (I+D) pueden trasladarse a los pacientes en forma de precios cada vez menos accesibles para los medicamentos que requieren prescripción médica.<sup>102</sup> Esto, a pesar de que el desarrollo de los fármacos probablemente ya estaba financiado con fondos públicos, lo que significa que los pacientes, en esencia, “pagan dos veces” por acceder a medicamentos.<sup>103</sup>

Durante una conferencia en 2017, Scott Gottlieb, el entonces director de la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU. (FDA), lamentó el elevado costo del desarrollo de medicamentos y su impacto tanto en los pacientes como en la economía estadounidense. De acuerdo con él, es importante reducir los costos de I+D “para asegurarnos de proporcionar una vía eficiente para traducir la ciencia de vanguardia en tratamientos prácticos que beneficiarán a los pacientes” y “porque el creciente costo del desarrollo de medicamentos es insostenible”.<sup>104</sup> Gottlieb señaló que “[a] menos que encontremos la forma de modernizar el enfoque de nuestro trabajo y hacer un uso más eficiente de nuestros recursos, tendremos menos medicamentos y los costos serán más elevados”, y añadió que “[e]n un momento en el que las personas, con justa razón, se preocupan por el aumento de los precios de los medicamentos y el impacto en su acceso por parte de los pacientes, también tenemos que pensar en los factores que contribuyen al elevado costo de fabricar medicamentos nuevos”.<sup>104</sup>

Uno de los factores que contribuyen al elevado costo de I+D es el importante riesgo asociado al desarrollo de un producto que no llegue a convertirse en un medicamento comercializable por no tener éxito en los ensayos clínicos en humanos. El 95% de los fármacos que resultan seguros y efectivos en animales fracasa en los ensayos en humanos,<sup>2</sup> la mayoría por sus efectos nocivos o porque no funcionan como se esperaba.<sup>50,105,106</sup> También hay casos en los que medicamentos que llegan al mercado son retirados debido a efectos adversos o nocivos que no se detectaron en las pruebas en animales.<sup>50</sup> El fracaso durante las fases de ensayo clínico del desarrollo de fármacos es el mayor generador de costos de I+D,<sup>107</sup> lo que indica la urgente necesidad de adoptar mejores modelos predictivos.<sup>108</sup>

**“Los fármacos que muestran seguridad y eficacia en modelos animales preclínicos pueden exhibir propiedades farmacológicas muy diferentes cuando se administran a seres humanos”.<sup>47</sup>**

Por otra parte, es posible que los medicamentos que podrían ser eficaces en humanos no se prueben nunca en ensayos clínicos porque resultaron ineficaces o nocivos en animales. Al abogar por el uso de modelos basados en humanos durante la investigación y las pruebas de fármacos, un equipo científico señaló lo siguiente:

[L]os candidatos a fármacos potencialmente eficaces nunca pasan a ensayos clínicos debido a los resultados negativos de las pruebas preclínicas, ya que la mayoría de los modelos animales se asemeja poco a las condiciones humanas y, por lo tanto, tiene valores predictivos bajos. Las discrepancias surgen de diferentes disposiciones anatómicas y barreras biológicas, divergencias en la expresión de receptores y las respuestas inmunológicas, especificidades como huésped de microorganismos y mecanismos patogénicos distintos.<sup>106</sup>

Con el uso de tecnología relevante para los humanos en lugar de experimentos caros, prolongados e imprecisos en animales, el costo del desarrollo de medicamentos puede reducirse drásticamente. Los expertos han calculado que el uso de órganos en chip, que es solo un tipo de modelo sin animales, podría reducir los costos de I+D entre un 10% y un 26%, lo que supondría un ahorro de hasta 706 millones de dólares.<sup>108</sup> La reducción de los gastos y el tiempo que tardan en llegar al mercado los tratamientos eficaces permitirá a los fabricantes trasladar este ahorro a los pacientes.<sup>108</sup>

## Crecimiento económico y laboral en el sector tecnológico

El mercado de la tecnología *in vitro* basada en células humanas para investigación y ensayos biomédicos está creciendo rápidamente. De acuerdo con la empresa de investigación de mercado DataM Intelligence, “[e]l mercado mundial de órganos en chip alcanzó los 107,5 millones de dólares en 2022, se espera que llegue a los 796,7 millones de dólares en 2031 y que crezca con una TCAC [tasa de crecimiento anual compuesta] del 29,6% durante el período proyectado de 2024 a 2031”.<sup>109</sup> Se prevé una TCAC similar del 26,5% para los cultivos celulares tridimensionales, que podrían alcanzar los 14.800 millones de dólares en 2028.<sup>110</sup> También se espera un crecimiento sostenido en los mercados de células madre pluripotentes inducidas, la bioimpresión 3D y los ensayos basados en células.<sup>111-113</sup>

Por el contrario, a las organizaciones de investigación por contrato que se enfocan fuertemente en la reproducción y la venta de animales no les está yendo muy bien. A finales de 2024, Charles River Laboratories, que estaba bajo investigación federal por posibles violaciones de las leyes de importación de monos, informó una caída del 3,2% en los ingresos en el segundo trimestre, lo que llevó a la empresa a despedir a unos 600 empleados.<sup>114</sup> Inotiv (antes Envigo), otro proveedor de animales que recientemente estuvo bajo investigación penal por el maltrato de perros que reproducía

## Los métodos basados en la biología humana superan las pruebas en animales



Estos ejemplos demuestran que las herramientas de investigación basadas en la biología humana son mejores que los experimentos en animales para predecir resultados en humanos y podrían haber evitado su morbilidad y mortalidad.

- Un hígado humano en chip desarrollado por Emulate Inc. en Boston “fue capaz de identificar correctamente el 87% de los medicamentos probados que causaban lesiones hepáticas inducidas por fármacos en pacientes, a pesar de haber pasado las evaluaciones de las pruebas en animales. Estos medicamentos que inicialmente pasaron las evaluaciones en animales terminaron causando cerca de 250 muertes y 10 trasplantes de hígado”.<sup>124</sup> En septiembre de 2024, el Centro de Evaluación e Investigación de Medicamentos de la FDA aceptó este chip hepático en su programa piloto Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs, que permitirá a los desarrolladores utilizar la tecnología para evaluar el potencial de nuevos medicamentos para causar daño hepático en humanos, una de las principales razones por las que los fármacos fracasan en los ensayos clínicos.<sup>125</sup>
- En un estudio publicado en 2021, investigadores de la Universidad Johns Hopkins, el Instituto Noruego de Salud Pública y la organización benéfica británica para la seguridad del paciente Safer Medicines Trust utilizaron métodos *in vitro*

basados en muestras humanas para reevaluar la Troglitazona, un medicamento para tratar la diabetes.<sup>126</sup> La Troglitazona se había retirado del mercado debido a su grave y fatal toxicidad hepática, que causó la muerte de al menos 63 personas. Las pruebas *in vitro* más recientes predijeron este peligro potencial, mientras que los estudios preclínicos en animales no lo hicieron. Uno de los autores del estudio señaló que “[s]e deben administrar medicamentos más seguros y accesibles a los pacientes a lo largo de su vida. La industria farmacéutica está en crisis, sin productos en fase de desarrollo y con los costos por las nubes. Centrarse en la biología humana es la vía para desarrollar medicamentos más seguros con mayor rapidez y menores costos”.<sup>127</sup>

- A partir de una gran base de datos químicos, un algoritmo computarizado fue capaz de predecir mejor la toxicidad en humanos de una nueva sustancia química que las pruebas en animales.<sup>128</sup> De acuerdo con uno de los autores de este estudio, los resultados fueron “realmente reveladores”, ya que “sugieren que podemos reemplazar muchas pruebas en animales por predicciones basadas en computador y obtener resultados más confiables”.<sup>129</sup>
- Emulate y Janssen Pharmaceuticals han demostrado que un vaso sanguíneo en chip fue capaz de predecir una trombosis humana causada por un tratamiento con anticuerpos. Tras pruebas preclínicas en animales, se había determinado que este tratamiento era seguro, pero los ensayos clínicos tuvieron que interrumpirse después de que las personas que lo recibieron desarrollaran coágulos.<sup>130</sup>
- Los modelos computacionales que simulan células cardíacas humanas predicen la cardiotoxicidad en humanos –que puede producir arritmias peligrosas– con mayor precisión que las pruebas en animales.<sup>131</sup> Modelos como este son cruciales para “mejorar la seguridad de los fármacos, lo que reduce el riesgo para los pacientes durante los ensayos clínicos y acelera el desarrollo de medicamentos para pacientes que necesitan atención médica con urgencia”.<sup>132</sup>

para experimentación, tuvo una caída del 32,8% en sus ingresos del tercer trimestre de 2024, con una pérdida neta consolidada de 26,1 millones de dólares,<sup>115</sup> y atribuyó estas pérdidas financieras a la disminución de las ventas de primates.<sup>116</sup>

El abandono de la experimentación y las pruebas en animales puede abrir nuevas oportunidades para capacitar al personal de laboratorio, incluidos experimentadores, técnicos y cuidadores de animales, responsables de bienestar animal y criadores, en competencias que los preparen mejor para carreras estables y satisfactorias en sectores en expansión. La construcción de una nueva infraestructura en torno a la investigación basada en la

biología humana llenará los vacíos dejados por los criadores y proveedores de animales que han fracasado, y creará una gran cantidad de oportunidades laborales sin los riesgos mentales<sup>117-120</sup> y físicos<sup>121-123</sup> asociados al trabajo en instalaciones con animales enfermos, estresados y cautivos.

Una tecnología nueva –y sin serias limitaciones éticas– agilizará el desarrollo de medicamentos y hará que el proceso sea más seguro, económico y eficaz. El desarrollo de estas técnicas permite crear equipos de investigación interdisciplinarios que serán fundamentales para impulsar la ciencia traslacional y crear modelos personalizados de enfermedades para la medicina de precisión.

## Oportunidades para la toxicología reglamentaria

En el último cuarto de siglo se ha producido una revolución en la forma de analizar las sustancias químicas. Los ensayos sin animales están sustituyendo rápidamente las pruebas en animales. Esto es el resultado de una mejor comprensión de los procesos biológicos humanos y de la aparición de nuevas tecnologías que han permitido el desarrollo de métodos de prueba que pueden observar directamente los mecanismos celulares en lugar de los resultados burdos e inescrutables que se obtienen usando animales. También es el resultado de la presión pública y, como se explica más adelante, del descontento de la comunidad científica con los resultados de las pruebas en animales. La información celular y genética sobre la toxicidad potencial de una sustancia química, como el potencial de unión a receptores o la activación de genes o vías, se obtiene más fácilmente con ensayos sin animales (como los métodos *in vitro* o *in silico*) que con pruebas en animales.<sup>133</sup>

Las agencias reguladoras y la comunidad regulada reconocen cada vez más que las pruebas en animales no protegen adecuadamente la salud humana ni el ambiente y que “el enfoque actual requiere mucho tiempo y es costoso, lo que da lugar a un sistema sobrecargado que deja muchas sustancias químicas sin probar, a pesar de la posible exposición humana a ellas”.<sup>134</sup>

En 2007, las Academias Nacionales de Ciencias, Ingeniería y Medicina de EE. UU. (NASEM) publicaron el contundente informe *Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy*, en el que se afirma que los “[a]vances en toxicogenómica, bioinformática, biología de sistemas, epigenética y toxicología computacional podrían transformar las pruebas de toxicidad, que pasarían de ser un sistema basado en pruebas en animales a uno basado, sobre todo, en métodos *in vitro* que evalúen los cambios en los procesos biológicos usando células y líneas o componentes celulares, preferentemente de origen humano.”<sup>135</sup> Los cambios propuestos generarán mejores datos sobre los riesgos potenciales a los que se enfrentan los humanos a causa de sustancias ambientales como los pesticidas, lo cual representará una base científica más robusta que puede mejorar las decisiones normativas para mitigar esos riesgos, mientras que se reduce el tiempo, el dinero y el número de animales necesarios para las pruebas. El comunicado de prensa de NASEM resume este enfoque:

El informe recomienda un enfoque que aproveche la rápida evolución de los conocimientos científicos sobre cómo los genes, las proteínas y las pequeñas moléculas interactúan para mantener la función normal de las células y cómo algunas de estas interacciones pueden verse alteradas de manera que podrían causar problemas de

salud. Específicamente, el nuevo enfoque de las pruebas se centraría en las vías de toxicidad, es decir, en las vías celulares que, cuando se alteran lo suficiente, se espera que produzcan efectos adversos para la salud.<sup>167</sup>

Los procesos actuales mediante los cuales se validan nuevos enfoques *in vitro* deben adaptarse para tener en cuenta su capacidad de evaluar mecanismos de toxicidad o eventos específicos dentro de una vía de resultado adverso (AOP). El enfoque tradicional para evaluar la precisión de un nuevo método generalmente requiere una comparación uno a uno entre los nuevos datos y aquellos obtenidos de pruebas en animales. Esto es problemático no solo por la falta de reproducibilidad de muchas pruebas *in vivo*, sino porque estas pruebas suelen producir resultados apicales (fenotípicos) particulares según la especie que no necesariamente se correlacionan con la biología, los mecanismos de toxicidad o los eventos específicos de una AOP en los humanos.

Para mantenerse al día con el campo en rápida evolución de las pruebas toxicológicas sin animales, deben asignarse fondos de investigación para capacitar a reguladores e investigadores. Además, es fundamental mantener bases de datos sobre el número de animales usados en cada tipo de experimento, de modo que los esfuerzos para reemplazar las pruebas en animales puedan priorizarse y monitorearse adecuadamente.

Al eliminar el uso de pruebas en animales con fines regulatorios cuando existen métodos de reemplazo, y al promover una mayor optimización de los métodos actualmente en desarrollo, los países tienen la oportunidad de proteger mejor la salud humana y el ambiente.

Los reguladores ya han adoptado este enfoque. Por ejemplo, la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. (EPA) publicó su *New Approach Methods Work Plan*, que describe pasos concretos que la agencia tomará en los próximos años para reducir las pruebas en vertebrados para pesticidas y productos químicos. Más aún, la Comisión Europea se ha comprometido a desarrollar una hoja de ruta para poner fin a todas las pruebas obligatorias en animales para productos químicos industriales, pesticidas, biocidas y medicamentos humanos y veterinarios en la Unión Europea. Esta última acción fue resultado directo de una Iniciativa Ciudadana Europea firmada por más de 1,2 millones de personas en toda la UE, solicitando a la comisión un futuro en Europa sin pruebas en animales.

Las oportunidades para poner fin al uso de animales en pruebas regulatorias de forma inmediata o en los próximos años se detallan en los apéndices. Estas incluyen pruebas de irritación ocular y cutánea, sensibilización de la piel y seguridad y eficacia de vacunas y productos biológicos.

## Necesidad de un cambio de paradigma

Si queremos que los limitados fondos públicos se utilicen de manera responsable, se deben financiar estudios confiables y métodos de investigación que conduzcan a tratamientos eficaces para las enfermedades y protejan la salud humana y el ambiente. Pero la evidencia de que los experimentos en animales obstaculizan el desarrollo de tratamientos y curas para las enfermedades humanas no ha llevado a una reconsideración suficiente de las prioridades de investigación y financiación por parte de las agencias financiadoras o reguladoras. Este cambio de paradigma es imprescindible a nivel global.

Un creciente consenso científico en contra del uso de animales en experimentación puede observarse en varios ámbitos, como las publicaciones que documentan el limitado valor predictivo de los experimentos en animales, la mayor concientización sobre la cognición y la sintiencia de los animales, el rápido declive del apoyo público al uso de animales y las medidas adoptadas en todo el mundo para planificar la eliminación progresiva de dicho uso.<sup>3,51,52,139</sup> **Modernicemos la Investigación YA ofrece una guía para que legisladores, financiadores, empresas e investigadores planeen este cambio imprescindible.**

Abandonar los experimentos en animales permitirá un crecimiento sustancial de los sectores científico y tecnológico y un retorno más rápido de la inversión en investigación y desarrollo de medicamentos,<sup>101</sup> como se ha visto tras la prohibición de las pruebas de cosméticos en la Unión Europea (UE). Redirigir la financiación de la investigación hacia métodos relevantes para los humanos, capaces de recapitular la fisiología y la biología humanas sin usar animales ni sus tejidos, permitirá que los tratamientos lleguen a los pacientes de forma más segura y, probablemente, en menos tiempo.<sup>50,105,140</sup>

En apoyo al uso de un enfoque basado en la evidencia para acelerar la llegada de medicamentos útiles a los pacientes que los necesitan, en un artículo publicado en 2017 se solicitó la eliminación del uso de animales en experimentos en los que hay pruebas claras de que los animales no son útiles ni predicen las enfermedades humanas:

La bibliografía está repleta de ejemplos de contradicciones y discordancias entre los efectos en animales y en humanos, incluidos muchos casos en los que resultados prometedores en animales no se han traducido en una eficacia clínicamente significativa en humanos. Esto es especialmente cierto en algunas áreas terapéuticas como las enfermedades neurodegenerativas, psiquiátricas y del sistema nervioso central, así como en la septicemia y las enfermedades inflamatorias.

Estas complejidades inherentes a la investigación traslacional brindan una oportunidad importante para explorar enfoques novedosos que produzcan resultados exitosos y eficaces lo más cercanos posible a un eventual beneficio para los humanos. Con varios ejemplos ilustrativos encontrados en nuestro programa de adaptación de medicamentos, proponemos aquí un enfoque para evaluar cuándo es apropiado llevar a cabo el “último experimento primero”, es decir, avanzar directamente a las investigaciones en humanos cuando es probable que el trabajo en animales no proporcione datos adecuados que generen aplicaciones humanas de interés. Esto representa un obstáculo importante –y, en nuestra opinión, evitable– a la introducción de medicamentos.<sup>141</sup>

### Principales hitos en la transición mundial hacia la investigación sin animales

- 2013** Se estableció el Centro Brasileño para la Validación de Métodos Alternativos, sin animales, para la investigación y la educación.
- 2018** Los Países Bajos lanzaron el Programa de Transición para la Innovación sin el uso de animales con el fin de acelerar la adopción de métodos basados en la biología humana.
- 2021** Los miembros del Parlamento Europeo votaron casi por unanimidad a favor de una moción para establecer un plan a nivel de la UE para eliminar gradualmente los procedimientos en animales vivos y promover los métodos sin animales.
- 2022** El presidente de EE. UU. aprobó la Ley de Modernización de la FDA 2.0, que otorgó a la agencia la autoridad para aceptar datos de métodos sin animales en las solicitudes de aprobación de nuevos medicamentos.
- 2023** El Gobierno de la India aprobó una enmienda a las Reglas de Nuevos Medicamentos y Ensayos Clínicos que autoriza el uso de métodos de investigación sin animales y relevantes para los humanos para probar la seguridad y la eficacia de nuevos medicamentos.
- 2023** La UE respondió a la Iniciativa Ciudadana Europea Salvemos los Cosméticos Sin Crueldad - Compromiso con una Europa sin Pruebas en Animales declarando que “iniciará una serie de acciones para acelerar la reducción de las pruebas en animales en investigación, educación y capacitación”.
- 2024** El Departamento de Ciencia, Innovación y Tecnología del Reino Unido anunció varias medidas para apoyar el uso de alternativas sin animales en la investigación.
- 2024** Los Institutos Nacionales de Salud de EE. UU. (NIH) iniciaron el programa Complement Animal Research in Experimentation “para acelerar el desarrollo, la estandarización, la validación y el uso de métodos basados en humanos... sin animales.”
- 2024** El Gobierno de Nueva Gales del Sur, en Australia, anunció que establecerá una Red de Tecnologías sin Animales para desarrollar métodos alternativos y asesorar sobre la infraestructura y las regulaciones necesarias.

## Liderazgo mundial

Existe un movimiento internacional para dejar atrás el uso de animales en experimentos y pruebas regulatorias, lo que refleja el creciente consenso en la comunidad científica de que el uso

de animales en la investigación biomédica básica y en pruebas reglamentarias no es ni ético ni eficaz. Australia, la UE, Japón, Nueva Zelanda y el Reino Unido han prohibido o limitado el uso de grandes simios (chimpancés, gorilas y orangutanes) en experimentos; y EE. UU., ya no otorga fondos públicos para experimentos en chimpancés.<sup>136</sup>

La infografía de la página 14 destaca algunos de los principales hitos que se han producido desde 2013 en la transición mundial para abandonar los experimentos en animales y avanzar hacia la investigación sin animales. El equipo científico de PETA ha participado en la mayoría de estos avances. En 2016, el Comité Nacional de los Países Bajos para la protección de los animales utilizados con fines científicos (NCad) le solicitó información a PETA, que luego utilizó en un informe consultivo sobre la transición del país a la innovación sin el uso de animales. Posteriormente, se estableció el Programa de Transición para la Innovación sin el uso de animales (TPI), cuyo objetivo es reunir a las partes interesadas y ofrecer una plataforma que permita identificar y desarrollar actividades para acelerar el ritmo de la transición.<sup>137</sup> El informe elaborado por PETA para NCad se convirtió en el primer Plan para Modernizar la Investigación.

En 2021, tras recibir de las entidades de PETA una versión europea del Plan para Modernizar la Investigación, los miembros del Parlamento Europeo apoyaron casi por unanimidad una propuesta de resolución en la que se pedía a la Comisión Europea que elaborara un plan de acción para eliminar de manera gradual los experimentos en animales y acelerar la transición a métodos innovadores sin animales en investigación, pruebas reglamentarias y educación.<sup>144</sup> Las entidades de PETA también han desempeñado un rol en acontecimientos más recientes en la UE, la India y el Reino Unido.

En EE. UU., a finales de 2022, el presidente Joe Biden firmó la Ley de Modernización de la FDA 2.0, apoyada por PETA,<sup>145</sup> que le permite a la FDA aceptar datos de métodos sin animales en las solicitudes de aprobación de nuevos fármacos, lo que elimina la suposición de que las pruebas en animales son necesarias antes de que un medicamento pueda avanzar a los ensayos clínicos.

Al año siguiente, el Comité Asesor del Grupo de Trabajo del Director de los NIH sobre la aceleración del desarrollo y uso de métodos alternativos novedosos para el avance en la investigación biomédica presentó sus conclusiones sobre cómo los NIH pueden aceptar mejores métodos sin animales.<sup>146</sup> El asesoramiento del grupo de trabajo hizo eco de las numerosas recomendaciones del equipo científico de PETA a lo largo de los años<sup>147</sup> y fue aceptado rápidamente por la entonces directora de los NIH, Monica Bertagnolli, a principios de 2024.<sup>148</sup> El Fondo Común de los NIH puso en marcha un nuevo programa centrado en el desarrollo, la normalización y la validación de métodos sin animales, denominado Complement-ARIE, lo que supone un avance de esta institución, estancada desde hace

tiempo. Sin embargo, la magnitud de este nuevo programa palidece en comparación con lo que los NIH siguen gastando en experimentos en animales poco trasladables. El presupuesto sugerido para Complement-ARIE, de solo 35 millones de dólares para el año fiscal 2025,<sup>149</sup> equivale al 0,07% del presupuesto total de los NIH para el mismo año, que supera los 50 mil millones de dólares,<sup>150</sup> y es casi 700 veces menor de lo que normalmente se esperaría que la agencia gastara en experimentos en animales en ese período.<sup>41</sup>

Aún queda mucho por hacer para que las políticas públicas sobre el financiamiento de la labor científica retiren su apoyo a los experimentos en animales y promuevan métodos innovadores y relevantes para los humanos. Este cambio es necesario para mejorar la calidad de la investigación biomédica y beneficiar la salud humana. Modernicemos la Investigación YA puede ayudar a promover esos cambios necesarios.

## Plan de acción: recomendaciones para modernizar la investigación biomédica

### 1. Poner fin al uso de animales en áreas de investigación en las que se ha demostrado que los animales son “modelos” deficientes de los humanos y su uso ha impedido el progreso científico y médico.

Múltiples revisiones han documentado el abrumador fracaso del uso de animales para beneficiar la salud humana en áreas específicas, como cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, trastornos gastrointestinales, inflamación, enfermedades infecciosas, septicemia, regeneración nerviosa, enfermedades neurodegenerativas, condiciones neuropsiquiátricas, accidente cerebrovascular y enfermedades de la mujer. Dado que los experimentos en animales en estas áreas generan resultados que son inútiles, en el mejor de los casos, y perjudiciales, en el peor, deben terminarse lo antes posible y sustituirse por métodos sin animales, más eficaces. En los apéndices encontrará más información y recomendaciones sobre estas áreas de investigación.

### 2. Realizar revisiones sistemáticas de la eficacia del uso de animales para identificar otras áreas en las que se dispone de métodos sin animales o en las que el uso de animales no ha logrado proteger la salud humana ni el ambiente y, por lo tanto, puede ponerse fin.

Deben realizarse revisiones sistemáticas exhaustivas para determinar la eficacia del uso de animales en las áreas de investigación en las que todavía se cuestiona si dicho uso es beneficioso. Las revisiones sistemáticas, que analizan críticamente múltiples estudios, son un paso fundamental para evaluar la

eficacia del uso de animales. Estas revisiones deben incluir información sobre el retorno de la inversión que obtiene el público a partir de los resultados de estudios en animales, especialmente cuando se financian con recursos de los contribuyentes.

Varias entidades de financiación estadounidenses, entre ellas los NIH, el Departamento de Asuntos de Veteranos y el Departamento de Defensa, son miembros del Foro de Financiación para Garantizar el Valor de la Investigación (EViR), un conjunto de los más destacados organismos internacionales de financiación creado para abordar el despilfarro en la investigación clínica y preclínica. El segundo principio rector de EViR establece que la “investigación solo debe financiarse si se enmarca en el contexto de una o más revisiones sistemáticas existentes de lo que ya se sabe o de una demostración contundente de la existencia de una laguna en la investigación”.<sup>151</sup> De acuerdo con EViR, “esto es importante porque las nuevas investigaciones que no se sitúan en el contexto de lo que ya se sabe conducen a duplicaciones innecesarias, a estudios que no pueden cambiar la toma de decisiones (p. ej., no cambiarán el metaanálisis) o a un diseño inadecuado (p. ej. medidas de resultado inapropiadas, supuestos de prevalencia incorrectos, incapacidad de aprender de estudios anteriores)”.<sup>151</sup> Para aplicar este principio, EViR afirma que los financiadores deben “[e]valuar periódicamente si se ha llevado a cabo una revisión adecuada y si los resultados de dicha revisión respaldan la necesidad de proseguir la investigación clínica o preclínica”.<sup>152</sup>

La recomendación de realizar revisiones sistemáticas de la eficacia de los procedimientos es, por lo tanto, algo en lo que las mayores agencias de financiación del mundo coinciden en considerar un principio necesario para guiar la investigación y reducir el despilfarro de recursos. Desafortunadamente, no existe un esfuerzo coordinado para implementar esta recomendación.

Un análisis de la necesidad científica de utilizar chimpancés en investigaciones biomédicas y del comportamiento, realizado por la Academia Nacional de Medicina de los EE. UU.,<sup>153</sup> reveló que se habían aprobado, financiado y realizado estudios perjudiciales durante años, a pesar de que existían métodos alternativos en casi todas las áreas en las que se usaban chimpancés. Las instancias de supervisión institucional y las agencias de financiación habían dado su visto bueno a estos protocolos. Sin embargo, como ahora sabemos, los procesos de revisión establecidos fueron inadecuados. En los casos en los que no se hayan realizado revisiones sistemáticas exhaustivas y objetivas del uso de animales en diversos ámbitos de investigación, estas deberían llevarse a cabo.

Existen varios recursos para facilitar las revisiones sistemáticas, como software para cada etapa del proceso de revisión, herramientas para evaluar la calidad de los estudios, normas para la elaboración de informes, talleres, tutoriales y oportunidades para encargar revisiones sistemáticas a equipos capacitados.<sup>154-156</sup>

### **3. Reasignar los fondos destinados a estudios en animales a métodos confiables sin animales.**

La escasa predictibilidad de los experimentos preclínicos en animales ha contribuido a las altas tasas de fracaso en el desarrollo de nuevos tratamientos. Mientras se continúen financiando estos experimentos, la investigación biomédica seguirá sin ofrecer tratamientos eficaces para las enfermedades humanas. Conscientes de esta realidad, cada vez más científicos están desarrollando y aplicando métodos relevantes para la salud humana y sin animales para estudiar y tratar enfermedades y probar productos. Diversos equipos de investigación han creado modelos derivados de células humanas, órganos en chips, modelos *in silico* y otros métodos capaces de reproducir la fisiología, las enfermedades y las respuestas a medicamentos de los humanos con más precisión que los experimentos en animales (ver la infografía en la página 10).

Numerosos estudios han demostrado repetidamente que estos nuevos métodos son mejores para el modelado de enfermedades humanas que los rudimentarios experimentos en animales, pero la financiación de estas herramientas aún no es suficiente. Por ello, las agencias financiadoras deben dar el siguiente paso y dejar de respaldar experimentos en animales que no han proporcionado tratamientos ni curas eficaces para los humanos. Así se liberarán inmensos recursos que, cuando se reinviertan en métodos, carreras e institutos innovadores que no usen animales –junto con la implementación de políticas públicas consistentes– impulsarán el desarrollo de curas y tratamientos para los humanos. Esto también aliviará el sufrimiento casi inimaginable de millones de animales y ayudará a proteger la salud humana.

### **4. Implementar un sistema de análisis de daños y beneficios para estudios en animales que considere los daños permanentes que se les causan e incluya una perspectiva ética.**

En aras del bienestar de los animales y la salud humana, los equipos de investigación deben centrar su talento, tiempo, dinero y energía en alejarse del uso arcaico de animales y priorizar áreas en las que el daño infligido a los animales es tan grande que ningún beneficio podría justificar el experimento. Estos son algunos ejemplos de este tipo de estudios: experimentos de privación materna (separar a los bebés de sus madres); experimentos psicológicos que causan miedo, ansiedad o depresión; experimentos de adicción a drogas, alcohol y alimentos; y experimentos dolorosos durante los cuales no se suministra analgesia. Hasta que se termine con todos los experimentos en animales, debe aplicarse un sistema de análisis que incluya un “umbral de riesgo” o “límite superior”, similar al empleado en la investigación en humanos. Esta clase de análisis puede encontrarse en los informes del Comité de Animales en la Ciencia del Reino Unido,<sup>157</sup> el informe del Grupo de Trabajo sobre el Uso de Chimpancés en la Investigación Patrocinada por los NIH<sup>153</sup> y la investigación de Pandora Pound,<sup>158</sup> entre otros.

El daño a los animales considerado no debe limitarse al resultante de procedimientos específicos, sino que debe incluir el daño inherente causado por su confinamiento en un laboratorio, donde los animales no tienen la oportunidad de satisfacer las necesidades propias de su especie. Actualmente, el sistema no determina de manera adecuada el grado de sufrimiento de los animales en estos experimentos. Hasta que los investigadores no hagan esta evaluación crítica, no podrán determinar razonablemente si los resultados de los experimentos justifican el dolor y el sufrimiento de los animales.

## **5. Colaborar con organizaciones y agencias a nivel global para armonizar los métodos de prueba sin animales como requisitos de la evaluación regulatoria y promover su aceptación internacional.**

Como se describió anteriormente, la aceptación regulatoria de técnicas sin animales en una región o un país representa una puerta abierta a la modernización internacional de los requisitos de evaluación. Por ello, abogamos por que los organismos reguladores nacionales e internacionales, así como las organizaciones de normalización, colaboren con la industria, las agencias de investigación y las organizaciones no gubernamentales pertinentes en todo el mundo para establecer y promover rutas claras y marcos simplificados para la validación y armonización de técnicas sin animales en los requisitos de pruebas regulatorias.

La confianza de la comunidad científica puede lograrse mediante evaluaciones transparentes y revisadas por pares sobre la idoneidad, la fiabilidad técnica y la relevancia de un nuevo método. Implementar un marco simplificado para evaluar nuevos métodos de prueba toxicológica que incorpore estos elementos clave –y que se base en qué tan bien reflejan la biología humana, en lugar de qué tan bien se alinean con los resultados tradicionales *in vivo*– permitiría una implementación más rápida de la mejor ciencia disponible y reemplazaría el uso de pruebas deficientes en animales.<sup>159</sup>

Para implementar la visión de un enfoque más sofisticado en las pruebas de toxicidad, que proporcione información de seguridad más adecuada sobre todos los productos químicos en el mercado, recomendamos que las agencias reguladoras y gubernamentales hagan cumplir el requisito legal vigente en la UE de adoptar, siempre que sea posible, un método o estrategia de ensayo científicamente satisfactorio que no implique el uso de animales vivos, en lugar de procedimientos que sí los involucren. Además, recomendamos que se implemente un centro público-privado para la toxicología predictiva sin animales a través del Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para Alternativas a la Experimentación Animal (EURL ECVAM). Dicho centro contribuiría a transformar la ciencia de la evaluación de seguridad, proporcionando nuevas herramientas para guiar a la industria, los gobiernos, los consumidores y los socios comerciales internacionales en la adopción de mejores prácticas.

## **6. Educar a la comunidad científica y a las agencias reguladoras sobre los beneficios de los métodos sin animales y cómo utilizarlos.**

A medida que se amplíen los campos de investigación y experimentación sin animales, contar con mayores oportunidades de educación y capacitación práctica acelerará la transición hacia estos métodos. Es importante que, a la par de estas iniciativas, se eliminen los obstáculos para adoptar nuevas tecnologías y se genere confianza en estas. Por ejemplo, Innovate UK ha reconocido que superar el escepticismo sobre la capacidad de los métodos sin animales para modelar procesos biológicos ayudará a eliminar una barrera importante en el uso de estos métodos. Además, el conservadurismo y la inercia que obstaculizan el abandono de los métodos basados en animales pueden superarse si se fomenta que los científicos “piensen más allá de sus áreas de investigación inmediatas en cómo pueden aprovecharse y usarse sus habilidades, tecnología y experiencia para acelerar el desarrollo y la adopción de”<sup>160</sup> métodos avanzados sin animales. Este tipo de iniciativas educativas debe adoptarse y recibir amplio respaldo en todo el sector de la investigación, incluidas la academia, la comunidad científica, las agencias financiadoras y la industria, y cubrir tanto a profesionales ya establecidos como a aquellos que están empezando su trayectoria científica.

Se necesita más educación y capacitación práctica en métodos sin animales. Los estudiantes y las personas que están iniciando su carrera científica deben tener la oportunidad de desarrollar las aptitudes necesarias para contribuir a este campo de investigación, de modo que puedan competir con los avances internacionales. Dado que muchos programas de estudios carecen de cursos suficientes sobre métodos sin animales, se han desarrollado programas de capacitación complementarios. Por ejemplo, el Centro Común de Investigación de la Comisión Europea organiza cursos de verano sobre enfoques sin animales.<sup>161</sup> Programas similares podrían replicarse en otros países. También existen muchos recursos en línea elaborados por expertos en la materia, incluidos aquellos ofrecidos por PETA Science Consortium International e.V.<sup>162</sup> y el programa Engaging Researchers in Animal-Free 21st Century Science (ERA21) del Comité de Médicos por una Medicina Responsable (PCRM).<sup>163</sup> La información sobre investigación y experimentación sin animales está disponible y debería ser un componente de la educación biomédica.

Los equipos de investigación ya establecidos que usen métodos basados en animales también deben recibir oportunidades de reentrenamiento y se les debe motivar para que forjen colaboraciones multidisciplinarias para desarrollar sus competencias y formas innovadoras de plantear preguntas de investigación y encontrar métodos para responderlas. Por ejemplo, el Programa de transición para la innovación (TPI) de los Países Bajos creó una serie de “helpathons”, o foros orientados a la acción y centrados en una pregunta concreta que invita a los investigadores a pensar de forma creativa sobre enfoques sin animales.<sup>164</sup>

La concientización de la comunidad científica acerca de los métodos sin animales puede aumentarse con la creación de un centro nacional de investigación y experimentación sin animales, y de posiciones de tiempo completo, cátedra y directivas enfocadas en métodos sin animales que ofrezcan asesoría a docentes, estudiantes y personal administrativo. Las universidades y otros centros académicos podrían crear departamentos dirigidos a facilitar la transición a la investigación y experimentación sin animales mediante la asesoría y la colaboración con otras instancias dentro de la misma institución. Estos departamentos podrían liderar la creación de programas de pregrado, posgrado y posdoctorado que usen exclusivamente métodos sin animales, así como talleres, seminarios y cursos sobre métodos *in vitro* e *in silico*.

Las agencias financiadoras también deben capacitarse para identificar los métodos más prometedores y avanzados sin animales que tengan potencial traslacional y crear nuevas vías de apoyo económico. Esta responsabilidad también recae en las instancias evaluadoras de proyectos de investigación de modo que puedan garantizar que no exista un sesgo en contra de los métodos sin animales y a favor de aquellos que usan animales.<sup>165</sup> Un análisis de la experiencia de los miembros de los paneles de evaluación y financiación de los NIH para la investigación neurocientífica básica, traslacional y preclínica reveló un sesgo desproporcionado hacia los experimentos en animales. Este sesgo se correlacionó con menores índices de financiación de proyectos de investigación sin animales. El estudio concluyó lo siguiente:

La implicación de estos datos es que los organismos de revisión sin suficiente experiencia en métodos sin animales pueden no estar evaluando ni considerando de manera justa los proyectos de investigación que proponen el uso de métodos sin animales. Esperamos que este análisis demuestre la necesidad de un cambio sistémico y cultural en la comunidad de investigación biomédica y sirva para abogar por políticas que eleven los estándares éticos y de eficacia en la investigación.<sup>166</sup>

A medida que se amplíe el campo de los métodos de experimentación sin animales, la comunidad científica y las políticas públicas de ciencia y tecnología deben seguir el ritmo de estos avances. Es urgente aumentar las iniciativas de educación y capacitación para generar confianza en métodos seguros y relevantes sin animales que protejan la salud humana y el ambiente.

## Conclusion

El actual despilfarro de recursos, tiempo y vidas de animales tiene consecuencias directas y devastadoras en la salud humana y el ambiente. Los experimentos en animales no generan de forma confiable las curas ni los tratamientos seguros y efectivos que se esperaban. Los mecanismos actuales de supervisión de la investigación biomédica no garantizan que no se usen animales innecesariamente, que se proteja su bienestar cuando se usan o que se apoyen los métodos relevantes para los humanos. Modernicemos la Investigación YA ofrece una estrategia para revitalizar la investigación biomédica y las pruebas regulatorias. Si esta estrategia no se implementa, la investigación financiada por los contribuyentes no proporcionará la investigación básica y aplicada ni las pruebas necesarias para la protección de la salud humana y el ambiente.

**Los apéndices incluyen información detallada sobre 42 áreas de investigación, educación médica, evaluación de la toxicidad y métodos de producción en laboratorio, así como acerca del sorprendente fracaso del uso de animales para proteger la salud humana y el ambiente.**

# REFERENCIAS

1. Harris R. *Rigor Mortis: How Sloppy Science Creates Worthless Cures, Crushes Hope, and Wastes Billions*. New York: Hachette Book Group; 2017. Accessed October 3, 2024. <https://www.hachettebookgroup.com/titles/richard-harris/rigor-mortis/9780465097913/?lens=basic-books>
2. National Center for Advancing Translational Sciences. New Therapeutic Uses. April 19, 2024. Accessed September 25, 2024. <https://ncats.nih.gov/research/research-activities/ntu>
3. Pound P, Bracken MB. Is animal research sufficiently evidence based to be a cornerstone of biomedical research? *BMJ*. 2014;348:g3387. doi:10.1136/bmj.g3387
4. Sena ES, Warp HB van der, Bath PMW, Howells DW, Macleod MR. Publication bias in reports of animal stroke studies leads to major overstatement of efficacy. *PLoS Biol*. 2010;8(3):e1000344. doi:10.1371/journal.pbio.1000344
5. Hirst JA, Howick J, Aronson JK, et al. The need for randomization in animal trials: an overview of systematic reviews. *PLoS One*. 2014;9(6):e98856. doi:10.1371/journal.pone.0098856
6. Freedman LP, Cockburn IM, Simcoe TS. The economics of reproducibility in preclinical research. *PLoS Biol*. 2015;13(6):e1002165. doi:10.1371/journal.pbio.1002165
7. Collins FS, Tabak LA. Policy: NIH plans to enhance reproducibility. *Nature*. 2014;505(7485):612-613. doi:10.1038/505612a
8. Pound P, Ritskes-Hoitinga M. Is it possible to overcome issues of external validity in preclinical animal research? Why most animal models are bound to fail. *J Transl Med*. 2018;16(1):304. doi:10.1186/s12967-018-1678-1
9. Wall RJ, Shani M. Are animal models as good as we think? *Theriogenology*. 2008;69(1):2-9. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.09.030
10. van der Warp HB, Howells DW, Sena ES, et al. Can animal models of disease reliably inform human studies? *PLoS Med*. 2010;7(3):e1000245. doi:10.1371/journal.pmed.1000245
11. Bailoo JD, Reichlin TS, Würbel H. Refinement of experimental design and conduct in laboratory animal research. *ILAR J*. 2014;55(3):383-391. doi:10.1093/ilar/ilu037
12. Lahvis GP. Unbridle biomedical research from the laboratory cage. *eLife*. 2017;6. doi:10.7554/eLife.27438
13. Coit J, Coit A, Scott RW, Winder CB, Mason GJ. Conventional laboratory housing increases morbidity and mortality in research rodents: results of a meta-analysis. *BMC Biology*. 2022;20(1):1-22. doi:10.1186/s12915-021-01184-0/TABLES/2
14. Martin B, Ji S, Maudsley S, Mattson MP. "Control" laboratory rodents are metabolically morbid: why it matters. *PNAS*. 2010;107(14):6127-6133. doi:10.1073/pnas.0912955107
15. Kurtz DM, Feeney WP. The influence of feed and drinking water on terrestrial animal research and study replicability. *ILAR J*. 2019;60(2):175-196. doi:10.1093/ilar/ilaa012
16. Mesnage R, Defarge N, Rocque LM, Vendômois JS de, Séralini GE. Laboratory rodent diets contain toxic levels of environmental contaminants: implications for regulatory tests. *PLoS One*. 2015;10(7):e0128429. doi:10.1371/journal.pone.0128429
17. Barabas AJ, Darbyshire AK, Schlegel SL, Gaskill BN. Evaluation of ambient sound, vibration, and light in rodent housing rooms. *JAALAS*. 2022;61(6):660-671. doi:10.30802/AALAS-JAALAS-22-000040
18. Bell BA, Kaul C, Bonilha VL, Rayborn ME, Shadrach K, Hollyfield JG. The BALB/c mouse: effect of standard vivarium lighting on retinal pathology during aging. *Exp Eye Res*. 2015;135:192-205. doi:10.1016/j.exer.2015.04.009
19. Dauchy RT, Blask DE. Vivarium lighting as an important extrinsic factor influencing animal-based research. *JAALAS*. 2023;62(1):3-25. doi:10.30802/AALAS-JAALAS-23-000003
20. Greenman DL, Bryant P, Kodell RL, Sheldon W. Influence of cage shelf level on retinal atrophy in mice. *Lab Anim Sci*. 1982;32(4):353-356.
21. Povroznik JM, Faith RE, Kessler MJ, et al. Locomotor effects of a low-frequency fire alarm on C57BL/6 male mice: a preliminary study. *Lab Anim*. 2017;51(6):647-651. doi:10.1177/0023677217711966
22. Carboni TL, Martin JE, Healy SD. The impact of acute loud noise on the behavior of laboratory birds. *Front Vet Sci*. 2021;7. doi:10.3389/fvets.2020.607632
23. James CM, Olejniczak SH, Repasky EA. How murine models of human disease and immunity are influenced by housing temperature and mild thermal stress. *Temperature*. 2023;10(2):166-178. doi:10.1080/23289402022093561
24. Han A, Hudson-Paz C, Robinson BG, et al. Temperature-dependent differences in mouse gut motility are mediated by stress. *Lab Anim*. 2024;53(6):148-159. doi:10.1038/s41684-024-01376-5
25. Gaskill BN, Rohr SA, Pajor EA, Lucas JR, Garner JP. Some like it hot: mouse temperature preferences in laboratory housing. *Appl Anim Behav Sci*. 2009;116(2):279-285. doi:10.1016/j.applanim.2008.10.002
26. Kasza I, Cuncannan C, Michaud J, et al. "Humanizing" mouse environments: humidity, diurnal cycles and thermoneutrality. *Biochimie*. 2023;210:82-98. doi:10.1016/j.biochi.2022.10.015
27. Hylander BL, Eng JW, Repasky EA. The impact of housing temperature-induced chronic stress on preclinical mouse tumor models and therapeutic responses: an important role for the nervous system. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1036:173-189. doi:10.1007/978-3-319-67577-0\_12
28. Gozalo AS, Elkins WR. A review of the effects of some extrinsic factors on mice used in research. *Comp Med*. 2023;73(6):413-431. doi:10.30802/AALAS-CM-23-000028
29. Mieske P, Hobbiesiefken U, Fischer-Tenhagen C, et al. Bored at home?—a systematic review on the effect of environmental enrichment on the welfare of laboratory rats and mice. *Front Vet Sci*. 2022;9:899219. doi:10.3389/fvets.2022.899219
30. Rutuski AS, Améndola L, Makowska IJ, Weary DM. Effects of temporary access to environmental enrichment on measures of laboratory mouse welfare. *Sci Rep*. 2024;14(1):15143. doi:10.1038/s41598-024-65480-9
31. Gaskill BN, Garner JP. Stressed out: providing laboratory animals with behavioral control to reduce the physiological effects of stress. *Lab Anim*. 2017;46(4):142-145. doi:10.1038/labana.1218
32. Hylander BL, Repasky EA, Sexton S. Using mice to model human disease: understanding the roles of baseline housing-induced and experimentally imposed stresses in animal welfare and experimental reproducibility. *Animals*. 2022;12(3):371. doi:10.3390/ani12030371
33. Müller K, Lengheimer T, Kral-Pointner JB, et al. Exposure to soiled bedding reduces abnormal repetitive behaviors in mice. *Front Behav Neurosci*. 2022;16. doi:10.3389/fnbeh.2022.1062864
34. Garner JP. Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *ILAR J*. 2005;46(2):106-117. doi:10.1093/ilar.46.2.106
35. Balcombe JP. Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Lab Anim*. 2006;40(3):217-235. doi:10.1258/00236770677611488
36. Cannon TH, Heistermann M, Hankison SJ, Hockings KJ, McLennan MR. Tailored enrichment strategies and stereotypic behavior in captive individually housed macaques (*Macaca* spp.). *J Appl Anim Welf Sci*. 2016;19(2):171-182. doi:10.1080/10888705.2015.1126786
37. Zhou Z, Lu J, Liu WW, et al. Advances in stroke pharmacology. *Pharmacol Ther*. 2018;191:23-42. doi:10.1016/j.pharmthera.2018.05.012
38. National Institute of General Medical Sciences. NAGMSC Working Group on Sepsis. NIH; 2019:31. Accessed May 25, 2023. <https://www.nigms.nih.gov/News/reports/Documents/nagmsc-working-group-on-sepsis-final-report.pdf>
39. Wang CH, Siah KW, Lo AW. Estimation of clinical trial success rates and related parameters. *Biostatistics*. 2019;20(2):273-286. doi:10.1093/biostatistics/kxx069
40. Marshall LJ, Bailey J, Cassotta M, Herrmann K, Pistollato F. Poor translatability of biomedical research using animals—a narrative review. *Altern Lab Anim*. 2023;51(2):102-135. doi:10.1177/02611929231157756
41. Institute of Medicine, National Research Council. Emerging legal trends impacting animal research. In: *International Animal Research Regulations: Impact on Neuroscience Research: Workshop Summary*. National Academies Press (U.S.); 2012. Accessed October 16, 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK100123/>
42. Lauer MS. FY 2023 By the numbers: extramural grant investments in research. NIH Extramural Nexus. February 21, 2024. Accessed October 16, 2024. <https://nexus.od.nih.gov/all/2024/02/21/fy-2023-by-the-numbers-extramural-grant-investments-in-research/>
43. NIH. Glossary. Grants & Funding. July 10, 2024. Accessed October 16, 2024. <https://grants.nih.gov/grants/glossary.htm>
44. Lauer MS. NIH's commitment to basic science. NIH Extramural Nexus. March 25, 2016. Accessed October 16, 2024. <https://nexus.od.nih.gov/all/2016/03/25/nihs-commitment-to-basic-science/>
45. Contopoulos-Ioannidis DG, Ntzani EE, Ioannidis JPA. Translation of highly promising basic science research into clinical applications. *Am J Med*. 2003;114(6):477-484. doi:10.1016/S0002-9343(03)00013-5
46. Temporary Specialist Scientific Committee. "FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase)", on the Causes of the Accident During a Phase 1 Clinical Trial in Rennes in January 2016; 2016. Accessed November 10, 2024. [https://archive.ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/744c7c6daf96b141bc9509a2f85c227e.pdf](https://archive.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/744c7c6daf96b141bc9509a2f85c227e.pdf)
47. Attarwala H. TGN1412: From discovery to disaster. *J Young Pharm*. 2010;2(3):332-336. doi:10.4103/0975-1483.66810
48. Ferguson P. The TGN1412 drug disaster. *SciTech*. 2009;5(4):12-13. doi:10.4103/0975-1483.66810
49. Hartung T. Per aspirin ad astra ... *Altern Lab Anim*. 2009;37(2\_suppl):45-47. doi:10.1177/016219290903702S10
50. Hartung T. The (misleading) role of animal models in drug development. *Front Drug Discov*. 2024;4. doi:10.3389/fddsv.2024.1355044
51. Strauss M. Americans are divided over the use of animals in scientific research. Pew Research Center. Accessed February 15, 2023. <https://www.pewresearch.org/fact-tank/2018/08/16/americans-are-divided-over-the-use-of-animals-in-scientific-research/>
52. Gallup, Inc. Moral Issues. Gallup.com. May 2024. Accessed June 2, 2024. <https://news.gallup.com/poll/1681/Moral-Issues.aspx>
53. Niemiec R, Mertens A, Crooks K, Kogan L, Seacor R, Santiago-Ávila FJ. United States Resident Survey on Animal Protection Issues and Policy Solutions. Animal-Human Policy Center, Colorado State University; 2024:27. Accessed November 19, 2024. [https://drive.google.com/file/d/1c6z9RjapQ\\_dR4LhwJ21qbG9k81-JqTkv/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1c6z9RjapQ_dR4LhwJ21qbG9k81-JqTkv/view?usp=sharing)
54. Physicians Committee for Responsible Medicine. Physicians Committee survey finds most Americans favor ending animal research. PCRM.org. October 2, 2024. Accessed November 19, 2024. <https://www.pcrm.org/news/good-science-digest/physicians-committee-survey-finds-most-americans-favor-ending-animal>
55. Woloshin S, Schwartz LM, Cosella SL, Kennedy AT, Larson RJ. Press releases by academic medical centers: not so academic? *Ann Intern Med*. 2009;150(9):613-618. doi:10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00007
56. Bailey J, Balls M. Clinical impact of high-profile animal-based research reported in the UK national press. *BMJ Open Sci*. 2020;4(1):e100039. doi:10.1136/bmjos-2019-100039
57. Triunfol M, Gouveia FC. What's not in the news headlines or titles of Alzheimer disease articles? #InMice. *PLoS Biol*. 2021;19(6):e3001260. doi:10.1371/journal.pbio.3001260
58. Wenger D, Ottwell R, Johnson AL, Torgerson T, Vassar M. The use of exaggerative language in news articles about cystic fibrosis therapies: exaggerative language describing cystic fibrosis therapies. *J Gen Intern Med*. 2021;36(5):1437-1439. doi:10.1007/s11606-020-05768-4
59. Ferrell M, Ferrell S, Ottwell R, Johnson J, Vassar M. Superlative use within news articles relating to therapies for multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2021;49:102736. doi:10.1016/j.msard.2021.102736
60. Leopold SS. Editor's spotlight/take 5: Are the lives of animals well-spent in laboratory science research? A study of orthopaedic animal studies in Turkey. *Clin Orthop Relat Res*. 2020;478(9):1961-1964. doi:10.1097/CORR.0000000000001420
61. Öztürk A, Erşan Ö. Are the lives of animals well-spent in laboratory science research? A study of orthopaedic animal studies in Turkey. *Clin Orthop Relat Res*. 2020;478(9):1965-1970. doi:10.1097/cor.0000000000001335

62. Raja SG. Invited commentary on "the translation of surgical animal models to human clinical research: a cross sectional study." *Int J Surg*. 2020;78:7. doi:10.1016/j.ijsu.2020.04.002
63. Browning H, Veit W. The sentence shift in animal research. *New Bioeth*. 2022;28(4):299-314. doi:10.1080/20502877.2022.2077681
64. Birch J, Burn C, Schnell A, Browning H, Crump A. Review of the Evidence of Sentience in Cephalopod Molluscs and Decapod Crustaceans. The London School of Economics and Political Science; 2021:108. <https://www.lse.ac.uk/News/News-Assets/PDFs/2021/Sentience-in-Cephalopod-Molluscs-and-Decapod-Crustaceans-Final-Report-November-2021.pdf>
65. Crump A, Browning H, Schnell AK, Burn CC, Birch J. Animal sentience research: synthesis and proposals. *ASent*. 2022;32(31). doi:10.51291/2377-7478.1770
66. Crump A, Browning H, Schnell AK, Burn CC, Birch J. Sentience in decapod crustaceans: a general framework and review of the evidence. *ASent*. 2022;7(32). doi:10.51291/2377-7478.1691
67. Gibbons M, Crump A, Barrett M, Sarlak S, Birch J, Chittka L. Chapter three: Can insects feel pain? A review of the neural and behavioural evidence. In: Jurenka R, ed. *Advances in Insect Physiology*. Vol 63. Academic Press; 2022:155-229. doi:10.1016/bs.aip.2022.10.001
68. NIH. Request for Information (RFI) on proposed guidance to assured institutions on cephalopod care and use. grants.nih.gov. September 7, 2023. Accessed November 19, 2024. <https://grants.nih.gov/grants/guide/notice-files/NOT-00-23-176.html>
69. Reardon S. Octopuses used in research could receive same protections as monkeys. *Nature*. Published online September 15, 2023. doi:10.1038/d41586-023-02887-w
70. Bolcombe J. Animal pleasure and its moral significance. *Appl Anim Behav Sci*. 2009;118(3):208-216. doi:10.1016/j.applanim.2009.02.012
71. Kiani AK, Pheby D, Henehan G, et al. Ethical considerations regarding animal experimentation. *JMPH*. 2022;63(2S3):E255-E255. doi:10.15167/2421-4248/jpmh2022.63.2S3.2768
72. The New York Declaration on Animal Consciousness. Background. April 19, 2024. Accessed November 20, 2024. <https://sites.google.com/nyu.edu/nydeclaration/background>
73. Working Group of the Oxford Centre for Animal Ethics. Normalising the Unthinkable: The Ethics of Using Animals in Research. Oxford Centre for Animal Ethics; 2015:8. Accessed November 20, 2024. <https://crueltyfreeinternational.org/sites/default/files/2021-09/Oxford%20summary%20final.pdf>
74. Low P. The Cambridge Declaration on Consciousness. Cambridge University; 2012:2. Accessed November 20, 2024. <https://philiplow.foundation/data/uploads/cambridge/CambridgeDeclarationOnConsciousness.pdf>
75. Akhtar A. Suffering for science and how science supports the end of animal experiments. In: Linzey A, Linzey C, eds. *The Palgrave Handbook of Practical Animal Ethics*. Palgrave Macmillan UK; 2018:475-491.
76. Taylor K, Alvarez LR. An estimate of the number of animals used for scientific purposes worldwide in 2015. *Altern Lab Anim*. 2019;47(5-6):196-213. doi:10.1177/0261192919899853
77. Carbone L. Estimating mouse and rat use in American laboratories by extrapolation from Animal Welfare Act-regulated species. *Sci Rep*. 2021;11(1):493. doi:10.1038/s41598-020-79961-0
78. National Agricultural Library. Animal Welfare Act. nal.usda.gov. 2023. Accessed November 20, 2024. <https://www.nal.usda.gov/animal-health-and-welfare/animal-welfare-act>
79. Health Research Extension Act of 1985; 1985:820-886. Accessed November 20, 2024. <https://www.govinfo.gov/app/details/STATUTE-99/STATUTE-99-Pg820>
80. Frasch PD. Gaps in US animal welfare law for laboratory animals: perspectives from an animal law attorney. *ILAR J*. 2016;57(3):285-292. doi:10.1093/ilar/ilw016
81. Kalman R, Olsson IAS, Bernardi C, et al. Ethical evaluation of scientific procedures: recommendations for ethics committees. In: *The COST Manual of Laboratory Animal Care and Use*. CRC Press; 2010.
82. Hansen LA. Institution animal care and use committees need greater ethical diversity. *J Med Ethics*. 2013;33(3):188-190. doi:10.1136/medethics-2012-100982
83. Hansen LA, Goodman JR, Chandra A. Analysis of animal research ethics committee membership at American institutions. *Animals*. 2012;2(1):68-75. doi:10.3390/ani2010068
84. USDA Office of the Inspector General. Animal and Plant Health Inspection Service Enforcement of the Animal Welfare Act. USDA; 1995:64. Accessed November 20, 2024. <https://www.peta.org/wp-content/uploads/2022/07/1995-USDA-OIG-Audit-of-APHIS-Enforcement-of-AWA.pdf>
85. Animal and Plant Health Inspection Service. USDA Employee Survey on the Effectiveness of IACUC Regulations. USDA; 2000:75. Accessed November 20, 2024. <https://fiocruz.br/biosseguranca/Bis/manuais/animais/USDA%20Employee%20Survey%20on%20the%20Effectiveness%20of%20IACUC%20Regulations.pdf>
86. USDA Office of the Inspector General. Audit Report: APHIS Animal Care Program Inspection and Enforcement Activities. USDA; 2005:60. Accessed November 20, 2024. [https://www.animalaw.info/sites/default/files/awa\\_enforcement\\_2005.pdf](https://www.animalaw.info/sites/default/files/awa_enforcement_2005.pdf)
87. USDA Office of the Inspector General. Animal and Plant Health Inspection Service Oversight of Research Facilities. USDA; 2014:57. Accessed November 20, 2024. <https://usdoig.oversight.gov/sites/default/files/reports/2024-11/33601-0001-41.pdf>
88. ACD Working Group on Enhancing Rigor, Transparency, and Translatability in Animal Research. Final Report. NIH; 2021:53. Accessed November 20, 2024. [https://acd.od.nih.gov/documents/presentations/06112021\\_RR-AR%20Report.pdf](https://acd.od.nih.gov/documents/presentations/06112021_RR-AR%20Report.pdf)
89. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. 8<sup>th</sup> ed. National Academies Press; 2011. <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>
90. American Association for Laboratory Animal Science. AALAS position statement on the humane care and use of laboratory animals. *Comp Med*. 2007;57(4):413.
91. Russell WMS, Burch RL. *The Principles of Humane Experimental Technique*. Methuen & Co, Ltd; 1959. Accessed December 16, 2022. <http://books.google.com/books?id=j75qAAAMAAJ>
92. McLeod C, Hartley S. Responsibility and laboratory animal research governance. *Sci Technol Human Values*. 2018;43(4):723-741. doi:10.1177/0162243917727866
93. DeGrazia D, Beauchamp TL. Beyond the 3 Rs to a more comprehensive framework of principles for animal research ethics. *ILAR J*. 2021;60(3):308-317. doi:10.1093/ILAR/ILZ011
94. Eggel M, Würbel H. Internal consistency and compatibility of the 3Rs and 3Vs principles for project evaluation of animal research. *Lab Anim*. 2021;55(3):233-243. doi:10.1177/0023677220968583
95. Bailey J. It's time to review the Three Rs, to make them more fit for purpose in the 21<sup>st</sup> century. *Altern Lab Anim*. 2024;52(3):155-165. doi:10.1177/02611929241241187
96. Schuppli CA, Fraser D, McDonald M. Expanding the Three Rs to meet new challenges in humane animal experimentation. *Altern Lab Anim*. 2004;32(5):525-532. doi:10.1177/026119290403200507
97. Müller ND. Beyond anthropocentrism: the moral and strategic philosophy behind Russell and Burch's 3Rs in animal experimentation. *Sci Eng Ethics*. 2024;30(5):44. doi:10.1007/s11948-024-00504-1
98. National Research Council, Institute of Medicine, Commission on Life Sciences, Institute for Laboratory Animal Research, Committee on the Use of Laboratory Animals in Biomedical and Behavioral Research. *Patterns of Animal Use*. In: *Use of Laboratory Animals in Biomedical and Behavioral Research*. National Academies Press (US); 1988. Accessed November 12, 2024. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK218261/>
99. APHIS. Research facility annual usage summary report. aphis.usda.gov. October 22, 2024. Accessed November 12, 2024. <https://www.aphis.usda.gov/awa/research-facility-report/annual-summary>
100. Harrison C. 3R centers tap into the human mindset to bolster replacement, reduction and refinement uptake. *Lab Anim (NV)*. 2024;53(7):166-169. doi:10.1038/s41684-024-01396-1
101. Meigs L, Smirnova L, Rovida C, Leist M, Hartung T. Animal testing and its alternatives—the most important omics is economics. *ALTEX*. 2018;35(3):275-305. doi:10.14573/altex.1807041
102. Siddiqui M, Rajkumar SV. The high cost of cancer drugs and what we can do about it. *Mayo Clin Proc*. 2012;87(10):935. doi:10.1016/j.mayocp.2012.07.007
103. Santoro H. Americans paid \$11 billion to make drugs you can't afford. *The Lever*. February 22, 2024. Accessed October 25, 2024. <https://www.levernews.com/americans-paid-11-billion-to-make-drugs-you-cant-afford/>
104. Adams B. FDA commissioner: We need to talk about drug development costs. *Fierce Biotech*. September 12, 2017. Accessed October 25, 2024. <https://www.fiercebiotech.com/biotech/fda-commish-we-need-to-talk-about-drug-development-costs>
105. Kramer LA, Greek R. Human stakeholders and the use of animals in drug development. *Bus Soc Rev*. 2018;123(1):3-58. doi:10.1111/bosr.12134
106. Loewo A, Feng JJ, Hedtrich S. Human disease models in drug development. *Nat Rev Bioeng*. Published online May 11, 2023:1-15. doi:10.1038/s44222-023-00063-3
107. Paul SM, Mytelka DS, Dunwiddie CT, et al. How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9(3):203-214. doi:10.1038/nrd3078
108. Franzen N, Van Harten WH, Retèl VP, Loskill P, Van Den Eijnden-Van Raaij J, Ijzerman M. Impact of organ-on-a-chip technology on pharmaceutical R&D costs. *Drug Discov Today*. 2019;24(9):1720-1724. doi:10.1016/j.drudis.2019.06.003
109. DataM Intelligence. Organ-on-chip market size, share, growth and trends value forecast 2024. *DataM Intelligence*. July 2024. Accessed October 28, 2024. <https://www.datamintelligence.com/research-report/organ-on-chip-market>
110. BCC Publishing. Global 3D Cell Cultures Market Size & Growth Analysis Report; 2024. Accessed October 29, 2024. <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/3d-cell-culture-technologies-markets-report.html>
111. BCC Publishing. Global Bioprinting Market Research and Growth Forecast Analysis; 2023. Accessed October 29, 2024. <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/bioprinting-markets-technologies-report.html>
112. BCC Publishing. Global Induced Pluripotent Stem Cells Market Growth 2023-2028; 2024. Accessed October 29, 2024. <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/induced-pluripotent-stem-cells-report.html>
113. BCC Publishing. Cell Based Assays Market Size, Share & Growth Analysis Report; 2022. Accessed October 29, 2024. <https://www.bccresearch.com/market-research/biotechnology/cell-based-assays-technologies-markets-report.html>
114. Incarvoia D. Charles River lays off 3% of workforce in wake of Q2 revenue dip. *Fierce Biotech*. September 12, 2024. Accessed October 29, 2024. <https://www.fiercebiotech.com/cro/wake-second-quarter-revenue-drop-charles-river-cuts-3-workforce>
115. Inotiv Inc. Inotiv reports third quarter financial results for fiscal 2024 and provides business update. GlobeNewswire News Room. August 8, 2024. Accessed October 29, 2024. <https://www.globenewswire.com/news-release/2024/08/08/2927339/0/en/Inotiv-Reports-Third-Quarter-Financial-Results-for-Fiscal-2024-and-Provides-Business-Update.html>
116. White W. Why is Inotiv (NOTV) stock down 35% today? *InvestorPlace*. May 14, 2024. Accessed October 29, 2024. <https://investorplace.com/2024/05/why-is-inativ-notv-stock-down-35-today/>
117. Mamzer H, Zak A, Biatas P, Andrusiewicz M. Negative psychological aspects of working with experimental animals in scientific research. *PeerJ*. 2021;9:e11035. doi:10.7717/peerj.11035
118. Morahan HL, Cohen S, Bero L, Rooney KB. The culture of care to enhance laboratory animal personnel well-being: a scoping review. *Lab Anim*. Published online September 3, 2024:00236772241259089. doi:10.1177/00236772241259089
119. LaFollette MR, Riley MC, Cloutier S, Brady CM, O'Haire ME, Gaskill BN. Laboratory animal welfare meets human welfare: a cross-sectional study of professional quality of life, including compassion fatigue in laboratory animal personnel. *Front Vet Sci*. 2020;7. doi:10.3389/fvets.2020.00114

120. Randall MS, Moody CM, Turner PV. Mental wellbeing in laboratory animal professionals: a cross-sectional study of compassion fatigue, contributing factors, and coping mechanisms. *AALAS*. 2021;60(1):54-63. doi:10.30802/AALAS-JAALAS-20-000039
121. University of Iowa. Occupational hazards associated with the care and use of laboratory animals. Accessed October 29, 2024. <https://animal.research.uiowa.edu/occupational-hazards-associated-care-and-use-laboratory-animals>
122. Khabbaz RF, Rowe T, Heneine WM, et al. Simian immunodeficiency virus needlestick accident in a laboratory worker. *Lancet*. 1992;340(8814):271-273. doi:10.1016/0140-6736(92)92358-M
123. Hicks JP. Infected monkeys at Michigan research lab threaten health and science. *mIive*. June 21, 2023. Accessed September 25, 2024. <https://www.mIive.com/public-interest/2023/06/infected-monkeys-at-michigan-research-lab-threaten-health-and-science.html>
124. Ewart L, Apostolou A, Briggs SA, et al. Performance assessment and economic analysis of a human liver-chip for predictive toxicology. *Commun Med*. 2022;2(1):1-16. doi:10.1038/s43856-022-00209-1
125. FDA. FDA's ISTAND Pilot Program accepts a submission of first organ-on-a-chip technology designed to predict human drug-induced liver injury (DILI). *fdagov*. September 24, 2024. Accessed October 30, 2024. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fdas-istand-pilot-program-accepts-submission-first-organ-chip-technology-designed-predict-human-drug>
126. Dirven H, Vist GE, Bandhakavi S, et al. Performance of preclinical models in predicting drug-induced liver injury in humans: a systematic review. *Sci Rep*. 2021;11(1):6403. doi:10.1038/s41598-021-85708-2
127. Safer Medicines Trust. Tests on human cells and tissues predict dangerous drug side effects where animal tests and even human trials fail. *Safer Medicines*. 2021. Accessed October 30, 2024. <https://safermedicines.org/for-immediate-release-tests-on-human-cells-and-tissues-predict-dangerous-drug-side-effects-where-animal-tests-and-even-human-trials-fail/>
128. Luechtefeld T, Marsh D, Rowlands C, Hartung T. Machine learning of toxicological big data enables read-across structure activity relationships (RASAR) outperforming animal test reproducibility. *Toxicol Sci*. 2018;165(1):198-212. doi:10.1093/toxsci/ky152
129. Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health. Database Analysis More Reliable Than Animal Testing for Toxic Chemicals. *publichealth.jhu.edu*. July 18, 2018. Accessed October 30, 2024. <https://publichealth.jhu.edu/2018/database-analysis-more-reliable-than-animal-testing-for-toxic-chemicals>
130. Barrille R, van der Meer AD, Park H, et al. Organ-on-chip recapitulates thrombosis induced by an anti-CD154 monoclonal antibody: translational potential of advanced microengineered systems. *Clin Pharmacol Ther*. 2018;104(6):1240-1248. doi:10.1002/cpt.1054
131. Passini E, Britton DJ, Lu HR, et al. Human in silico drug trials demonstrate higher accuracy than animal models in predicting clinical pro-arrhythmic cardiotoxicity. *Front Physiol*. 2017;8. doi:10.3389/fphys.2017.00668
132. Passini E, Rodriguez B, Benito P. Why computer simulations should replace animal testing for heart drugs. *The Conversation*. March 26, 2018. Accessed October 30, 2024. <http://theconversation.com/why-computer-simulations-should-replace-animal-testing-for-heart-drugs-93409>
133. Hartung T, FitzGerald RE, Jennings P, et al. Systems toxicology: real world applications and opportunities. *Chem Res Toxicol*. 2017;30(4):870-882.
134. The National Academies. Report calls for new directions, innovative approaches in testing chemicals for toxicity to humans. *ScienceDaily*. July 4, 2007. Accessed March 28, 2025. <https://www.sciencedaily.com/releases/2007/06/070628071625.htm>
135. NRC. Toxicity testing in the 21<sup>st</sup> century: a vision and a strategy. National Research Council. *The National Academies Press*; 2007. doi:10.17226/11970
136. van der Zalm AJ, Barroso J, Browne P, et al. A framework for establishing scientific confidence in new approach methodologies. *Arch Toxicol*. 2022;96(11):2865-2879. doi:10.1007/s00204-022-03365-4
137. U.S. Environmental Protection Agency. EPA new approach methods work plan: reducing use of vertebrate animals in chemical testing. Updated December 2021. Accessed March 10, 2025. <https://www.epa.gov/chemical-research/epa-new-approach-methods-work-plan-reducing-use-vertebrate-animals-chemical>
138. European Citizens' Initiative. Save cruelty free cosmetics—commit to a Europe without animal testing. *ECI(2021)000006*. July 25, 2023. Accessed March 10, 2025. [https://europa.eu/citizens-initiative/initiatives/details/2021/000006\\_en](https://europa.eu/citizens-initiative/initiatives/details/2021/000006_en)
139. Müller N. Phase-out planning for animal experimentation: a definition, an argument, and seven action points. *ALTEX*. Published online March 1, 2024. doi:10.14573/altex.2312041
140. Piesing M. How tech could spell the end of animals in drugs testing. *The Guardian*. <https://www.theguardian.com/science/2014/aug/23/tech-end-animals-drugs-testing>. August 23, 2014. Accessed October 22, 2024.
141. Pulley JM, Jerome RN, Zaleski NM, et al. When enough is enough: decision criteria for moving a known drug into clinical testing for a new indication in the absence of preclinical efficacy data. *Assay Drug Dev Technol*. 2017;15(8):354-361. doi:10.1089/adt.2017.821
142. Project R&R. International Bans. *ReleaseChimps.org*. Accessed October 31, 2024. <https://releasechimps.org/laws/international-bans>
143. Ministry of Agriculture, Fisheries, Food Security and Nature. TPI. Animal free innovation. Accessed October 31, 2024. <https://www.animalfreeinnovationtppi.nl/>
144. European Parliament. Plans and actions to accelerate a transition to innovation without the use of animals in research, regulatory testing and education. Vol 2021/2784(RSP); 2021. Accessed November 1, 2024. [https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/TA-9-2021-0387\\_EN.html](https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/TA-9-2021-0387_EN.html)
145. Paul R. Dr. Paul's bipartisan FDA Modernization Act 2.0 to end animal testing mandates included in 2022 year-end legislation. January 6, 2023. Accessed November 1, 2024. <https://www.paul.senate.gov/dr-pauls-bipartisan-fda-modernization-act-2-0-to-end-animal-testing-mandates-included-in-2022-year-end-legislation/>
146. ACD Working Group on Catalyzing the Development and Use of Novel Alternative Methods to Advance Biomedical Research. Catalyzing the Development and Use of Novel Alternative Methods. NIH; 2023. [https://www.acd.od.nih.gov/documents/presentations/Working\\_Group\\_Report.pdf](https://www.acd.od.nih.gov/documents/presentations/Working_Group_Report.pdf)
147. Trunnell E. NIH follows PETA scientists' recommendations for boosting non-animal research. *Science Advancement & Outreach*. April 29, 2024. Accessed November 1, 2024. <https://www.sciencedavancement.org/reflections/nih-follows-peta-scientists-recommendations/>
148. Bertagnoli MM. Statement on catalyzing the development of novel alternative methods. NIH. January 30, 2024. Accessed November 1, 2024. <https://www.nih.gov/about-nih/who-we-are/nih-director/statements/statement-catalyzing-development-novel-alternatives-methods>
149. Division of Program Coordination, Planning, and Strategic Initiatives. Complement Animal Research in Experimentation (Complement-ARIE)—A Common Fund Proposal. NIH; 2024:1. Accessed November 1, 2024. <https://dpcpsi.nih.gov/sites/default/files/2024-01/1-1PM-OSC-Concept-Complement-ARIE-Rutter-Waychik-onepager-508.pdf>
150. U.S. Department of Health and Human Services. Fiscal Year 2025: Budget in Brief. 2024:52-53. <https://www.hhs.gov/sites/default/files/fy-2025-budget-in-brief.pdf>
151. Ensuring Value in Research. Our principles. *EVIR*. 2022. Accessed November 1, 2024. <https://evir.org/our-principles/>
152. Ensuring Value in Research. Applying the principles. *EVIR*. 2022. Accessed November 1, 2024. <https://evir.org/our-principles/applying-the-principles/>
153. National Research Council, Institute of Medicine, Division on Earth and Life Studies, Board on Health Sciences Policy, Board on Life Sciences, Committee on the Use of Chimpanzees in Biomedical and Behavioral Research. *Chimpanzees in Biomedical and Behavioral Research: Assessing the Necessity*. National Academies Press; 2011. doi:10.17226/13257
154. Cochrane. Our products and services. *Cochrane.org*. 2024. Accessed November 13, 2024. <https://www.cochrane.org/about-us/our-products-and-services>
155. NIH Library. Systematic review standards & organizations. *NIH.gov*. Accessed November 13, 2024. <https://www.nihlibrary.nih.gov/services/systematic-review-service/systematic-review-standards-organizations>
156. NIH Library. Tools & resources. *NIH.gov*. Accessed November 13, 2024. <https://www.nihlibrary.nih.gov/services/systematic-review-service/tools-resources>
157. The Animals in Science Committee. Review of Harm-Benefit Analysis in the Use of Animals in Research. Home Office; 2017:88. [https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a81edade5274a2e8ab5695b/Review\\_of\\_harm\\_benefit\\_analysis\\_in\\_use\\_of\\_animals\\_18Jan18.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a81edade5274a2e8ab5695b/Review_of_harm_benefit_analysis_in_use_of_animals_18Jan18.pdf)
158. Pound P, Nicol CJ. Retrospective harm benefit analysis of pre-clinical animal research for six treatment interventions. *PLoS One*. 2018;13(3):e0193758. doi:10.1371/journal.pone.0193758
159. van der Zalm AJ, Barroso J, Browne P, et al. A framework for establishing scientific confidence in new approach methodologies. *Arch Toxicol*. 2022;96(11):2865-2879. doi:10.1007/s00204-022-03365-4.
160. Innovate UK, National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research, Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Defence, Science and Technology Laboratory, Engineering and Physical Sciences Research Council, Medical Research Council. *A Non-Animal Technologies Roadmap for the UK 2015:20*. <https://www.ukri.org/wp-content/uploads/2015/11/UK-071221-RoadmapNonAnimalTech.pdf>
161. Joint Research Centre (European Commission). EU Reference Laboratory for alternatives to animal testing (EURL ECVAM)—European Commission. 2024. Accessed November 2, 2024. [https://joint-research-centre.ec.europa.eu/reference-measurement/european-union-reference-laboratories/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam\\_en](https://joint-research-centre.ec.europa.eu/reference-measurement/european-union-reference-laboratories/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam_en)
162. PETA Science Consortium International e.V. Opportunities for Early-Career Scientists. 2024. Accessed November 2, 2024. <https://www.thepsoci.eu/early-career-scientists/>
163. Physicians Committee for Responsible Medicine. Early-career researchers advancing 21<sup>st</sup> century science. *PCRM.org*. 2024. Accessed November 2, 2024. <https://www.pcrm.org/ethical-science/ethical-education-and-training/ERA21>
164. TPI. Helpathons. *TPI TV*. 2024. Accessed November 2, 2024. <https://tptv.tv>
165. Coalition to Illuminate and Address Animal Methods Bias. Home | COLAAB. 2024. Accessed November 1, 2024. <https://www.animalmethodsbias.org/>
166. Trunnell ER, Roe KV. Predominance of animal-based expertise may bias NIH neuroscience grant review: a pilot study with implications for non-animal methodologies. *bioRxiv*. Preprint posted online March 2, 2025. doi:10.1101/2025.02.28.640877

# GLOSARIO

3R	Reemplazo, reducción y refinamiento	ISO*	Organización Internacional de Normalización
AE	Alerta estructural	JRC*	Centro Común de Investigación de la Comisión Europea
AOP*	Vía de resultado adverso	LAL	Lisado de amebocitos de <i>Limulus</i>
AWA*	Ley de Bienestar Animal de EE. UU.	LCT	Lesión cerebral traumática
BCOP*	Opacidad y permeabilidad corneal bovina	LME	Lesión de médula espinal
CAR*	Receptor quimérico de antígenos	MAT*	Prueba de activación de monocitos
CDC*	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE. UU.	NAGMSC*	Consejo Consultivo Nacional de Ciencias Médicas Generales
CTA*	Ensayo de transformación celular	NAMs*	Métodos sin animales; métodos con enfoques nuevos
EA	Enfermedad de Alzheimer	NHP*	Primate no humano
ECHA*	Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas	NGRA*	Evaluación de Riesgos de Nueva Generación
ECV	Enfermedad cardiovascular	NICEATM*	Centro Interinstitucional del Programa Nacional de Toxicología para la Evaluación de Métodos Toxicológicos Alternativos
EDQM*	Dirección Europea de Calidad de los Medicamentos y Servicios de Salud	NIGMS*	Instituto Nacional de Ciencias Médicas Generales de EE. UU.
EH	Enfermedad de Huntington	NIH*	Institutos Nacionales de Salud de EE. UU.
EII	Enfermedad de intestino irritable	NRU*	Captación de rojo neutro
ELA	Esclerosis lateral amiotrófica	NTP*	Programa Nacional de Toxicología
EMA*	Agencia Europea de Medicamentos	OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
EP	Enfermedad de Parkinson	OIG*	Oficina del Inspector General de EE. UU.
EPA*	Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU.	OPP*	Oficina de Programas de Pesticidas
EURL ECVAM*	Laboratorio de referencia de la Unión Europea para los métodos alternativos a la experimentación en animales	OPTN*	Red de Obtención y Trasplante de Órganos
EViR*	Foro de Financiación para Garantizar el Valor de la Investigación	PARC*	Alianza para la Evaluación de Riesgos de Sustancias Químicas
FDA*	Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU.	PCRM*	Physicians Committee for Responsible Medicine
GHS*	Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos	PETA*	People for the Ethical Treatment of Animals
GI	Gastrointestinal	<i>Ph. Eur.</i>	Farmacopea Europea
hiPSC*	Células madre pluripotentes inducidas humanas	QSAR*	Relación Cuantitativa estructura-actividad
HREA*	Ley de Extensión de la Investigación Sanitaria de 1985	REACH*	Registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias y preparados químicos
I+D	Investigación y Desarrollo	RhCE*	Epitelio reconstruido similar a la córnea humana
IACUC*	Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales	RHE*	Epidermis humana reconstruida
IATA*	Enfoque Integrado de Prueba y Evaluación	RPT*	Prueba de pirógenos en conejos
ICAPO*	Consejo Internacional para la Protección Animal en los Programas de la OCDE	SCCS*	Comité Científico de Seguridad de los Consumidores
ICCR*	Cooperación Internacional en la Regulación de Cosméticos	sida	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
ICCS*	Colaboración Internacional en la Seguridad de los Cosméticos	SII	Síndrome de intestino irritable
ICCVAM*	Comité de Coordinación Interinstitucional sobre la Validación de Métodos Alternativos	SFB	Suero fetal bovino
ICH*	Consejo Internacional para la Armonización de Requisitos Técnicos para Productos Farmacéuticos de Uso Humano	TCAC	Tasa de crecimiento anual compuesto
		TUS	Trastorno por uso de sustancias
		UNOS*	Red Unida para Compartir Órganos
		USDA*	Departamento de Agricultura de los EE. UU.
		VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
		VIS	Virus de inmunodeficiencia de los simios
		WoE*	Peso de la evidencia

\*Sigla en inglés.

# APÉNDICES

En las páginas siguientes se presenta información adicional sobre las oportunidades para reemplazar el uso de animales en diversas áreas de investigación biomédica, educación médica, evaluación de la toxicidad y métodos de producción en laboratorio. Los apéndices incluyen ejemplos de la implementación de métodos sin animales, pero no constituyen una recopilación exhaustiva de la bibliografía científica ni de las regulaciones a nivel mundial.

Cualquier mención de *PETA Science Consortium International e.V.* anterior a diciembre de 2020 se refiere a *PETA International Science Consortium Ltd.*

## ÍNDICE

<b>Investigación biomédica básica y aplicada</b>	<b>25</b>	<b>Evaluación de la toxicidad</b>	<b>59</b>
• Cáncer	25	• Enfoques para la evaluación de la toxicidad	59
• Enfermedad cardiovascular	26	• Cosméticos	60
• Terapia celular	28	• Ecotoxicidad	61
• Diabetes	29	◦ Toxicidad acuática y bioacumulación	61
• Inflamación e inmunología	30	◦ Toxicidad en aves	62
◦ VIH/sida	30	• Disrupción endocrina	63
◦ Inmunología murina	32	• Irritación/corrosión ocular	64
◦ Septicemia	33	• Genotoxicidad y carcinogenicidad	65
• Trastornos gastrointestinales	36	◦ Genotoxicidad	65
• Regeneración nerviosa	38	◦ Carcinogenicidad	66
• Enfermedades neurodegenerativas	40	• Fototoxicidad	68
• Trastornos neuropsiquiátricos y neurodivergencia	42	• Pirogenicidad	68
• Preparación ante una pandemia	44	• Toxicidad reproductiva y del desarrollo	70
• Accidente cerebrovascular	47	• Irritación/corrosión cutánea	71
• Trastorno por uso de sustancias	48	• Sensibilización cutánea	72
• Salud de la mujer	50	• Toxicidad sistémica	72
• Xenotrasplantes	52	◦ Toxicidad sistémica aguda	72
		◦ Toxicidad sistémica por dosis repetidas	72
		◦ Vía oral	73
		◦ Vía dérmica	73
		◦ Vía inhalatoria	73
<b>Educación médica</b>	<b>54</b>	<b>Métodos de producción en laboratorio</b>	<b>75</b>
• Formación médica	54	• Producción de anticuerpos	75
◦ Formación médica de pregrado	54	• Medicamentos biológicos	76
◦ Formación médica de posgrado	54	• Suero fetal bovino	77
• Formación en microcirugía	55		
• Formación en trauma	56		
• El futuro de la investigación en educación médica	58	<b>Capacidades de asesoría científica de las entidades de PETA</b>	<b>79</b>



## Investigación biomédica básica y aplicada

### Cáncer

Aunque las mejoras en los programas de detección han permitido un avance significativo en el diagnóstico temprano del cáncer y la reducción de las tasas de mortalidad,<sup>1,2</sup> esta enfermedad sigue siendo una de las principales causas de muerte en el continente americano y en 2022 causó 1,4 millones de fallecimientos.<sup>3</sup> La disminución de la incidencia de cáncer en las últimas dos décadas se ha atribuido, en parte, a cambios específicos en el estilo de vida, como la reducción del tabaquismo, el aumento de la actividad física y el mantenimiento de un peso corporal estable.<sup>4,5</sup> Aunque la investigación biomédica ha avanzado en la comprensión de la carcinogénesis, los ensayos clínicos no han logrado extrapolar los resultados del laboratorio al ámbito clínico de manera eficaz. Incluso tras importantes inversiones en investigación para el desarrollo de tratamientos contra el cáncer, la tasa de éxito de los medicamentos oncológicos es inferior al 10%.<sup>6</sup>

Un metaanálisis reciente concluyó que los experimentos de cáncer en animales tienen efectos más bajos y su probabilidad de replicación es menor en comparación con los experimentos de cáncer sin animales.<sup>7</sup> Los oncólogos han señalado que “las diferencias genéticas, moleculares, inmunológicas y celulares cruciales entre los humanos y los ratones impiden que los modelos animales sirvan como medios eficaces para buscar una cura contra el cáncer”.<sup>8</sup> En este sentido, Richard Klausner, exdirector del Instituto Nacional del Cáncer de EE. UU., señaló que “[l]a historia de la investigación en cáncer ha sido una historia de curar el cáncer en el ratón. Llevamos décadas curando el cáncer en ratones, pero no en humanos”.<sup>9</sup> Además, el enorme dolor y el sufrimiento que experimentan los animales plantean problemas éticos y de bienestar.<sup>10,11</sup>

De acuerdo con el mecanismo usado para desarrollar el tumor,

existen varios métodos para usar roedores, principalmente ratones, en experimentos de cáncer. Estos son el xenoinjerto, la ingeniería genética y, con menor frecuencia, la inducción espontánea por exposición a agentes carcinógenos.<sup>12,13</sup>

Para crear animales con xenoinjertos, se trasplantan células cancerosas humanas inmortalizadas o derivadas de un paciente, ya sea de forma subcutánea o en un órgano de roedores inmunodeprimidos, que luego pueden ser sometidos a una serie de experimentos, como el tratamiento con un fármaco candidato o una sustancia de interés. Aunque el xenoinjerto es el método más común para generar tumores en roedores, un análisis de 1110 modelos tumorales de xenoinjerto en ratones concluyó que estos modelos tienen problemas fundamentales que comprometen su capacidad para predecir los resultados terapéuticos en humanos.<sup>14</sup> El trasplante de células humanas altera el paisaje genético de los ratones de formas improbables en humanos, y estos cambios alteran las respuestas al tratamiento farmacológico.

Los ratones modificados genéticamente (transgénicos) se crean mediante la inserción o eliminación de genes humanos en el ADN de un ratón para inducir la expresión de oncogenes o desactivar los genes supresores de tumores, respectivamente. Dado que estas modificaciones ocurren de forma aleatoria, los investigadores no pueden controlar la expresión génica, por lo que es frecuente que se produzcan alteraciones imprevistas.<sup>15</sup> Los modelos de cáncer en ratones transgénicos no consiguen imitar la naturaleza esporádica del desarrollo tumoral, lo que da lugar a resultados inesperados que no se darían en pacientes humanos. Además, estos modelos exigen mucho tiempo y son costosos, ya que requieren del uso de numerosos animales para obtener el genotipo deseado y estable, y los “animales sobrantes” son asesinados.<sup>10</sup>

Un reporte sobre inmunooncología publicado en 2021 por el Centro de Investigación Conjunta de la Comisión Europea destacó métodos prometedores basados en la biología humana y sin animales para desarrollar nuevos tratamientos, estudiar la biología del cáncer y la inmunomodulación e identificar biomarcadores moleculares específicos, entre otros.<sup>16</sup> Algunos de estos modelos son las plataformas tridimensionales, como los tumores bioimpresos a partir de muestras de pacientes,<sup>17-20</sup> los órganos en chip para la medicina de precisión a partir de diferentes líneas celulares de cáncer<sup>21-25</sup> y los organoides derivados de pacientes.<sup>26-28</sup> Además, existen conjuntos de datos genómicos del cáncer<sup>29-33</sup> y herramientas de aprendizaje automático<sup>34-37</sup> disponibles para mejorar el diagnóstico y predecir las respuestas a los tratamientos en tiempo real.

Quienes emplean métodos sin animales para la investigación del cáncer se enfrentan a una barrera traslacional menor, ya que estos métodos se basan en la biología humana, no en la de los roedores.<sup>38</sup> Con los recursos financieros adecuados, estas nuevas herramientas harán avanzar la investigación del cáncer, producirán resultados relevantes para los humanos y acelerarán la marcha hacia la medicina de precisión.

## Referencias

1. Wender RC, Brawley OW, Fedewa SA, Gansler T, Smith RA. A blueprint for cancer screening and early detection: advancing screening's contribution to cancer control. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(1):50-79. doi:10.3322/caac.21550
2. Loud JT, Murphy J. Cancer screening and early detection in the 21<sup>st</sup> century. *Semin Oncol Nurs.* 2017;33(2):121-128. doi:10.1016/j.soncn.2017.02.002
3. Organización Panamericana de la Salud. Cáncer. Accessed May 9, 2025. <https://www.paha.org/es/temas/cancer>
4. Chen SLF, Nost TH, Botteri E, et al. Overall lifestyle changes in adulthood are associated with cancer incidence in the Norwegian Women and Cancer Study (NOWAC)—a prospective cohort study. *BMC Public Health.* 2023;23(1):633. doi:10.1186/s12889-023-15476-3
5. Cronin KA, Scott S, Firth AU, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, part 1: national cancer statistics. *Cancer.* 2022;128(24):4251-4284. doi:10.1002/cncr.34479
6. Wang CH, Siah KW, Lo AW. Estimation of clinical trial success rates and related parameters. *Biostatistics.* 2019;20(2):273-286. doi:10.1093/biostatistics/kxx069
7. Errington TM, Mathur M, Soderberg CK, et al. Investigating the replicability of preclinical cancer biology. Pasqualini R, Franco E, eds. *eLife.* 2021;10:e71601. doi:10.7554/eLife.71601
8. Mak IW, Evaniew N, Ghert M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *Am J Transl Res.* 2014;6(2):114-118.
9. Cimons M, Getlin J, Maugh II T. Cancer drugs face long road from mice to men. *Los Angeles Times.* May 6, 1998. Accessed October 23, 2021. <https://www.latimes.com/archives/la-xpm-1998-may-06-mn-46795-story.html>
10. Ormandy EH, Dale J, Griffin G. Genetic engineering of animals: ethical issues, including welfare concerns. *Can Vet J.* 2011;52(5):544-550.
11. Wewetzer H, Wagenknecht T, Bert B, Schönfelder G. The fate of surplus laboratory animals: minimizing the production of surplus animals has greatest potential to reduce the number of laboratory animals. *EMBO Rep.* 2023;24(3):e56551. doi:10.15252/embr.202256551
12. Li Z, Zheng W, Wang H, et al. Application of animal models in cancer research: recent progress and future prospects. *Cancer Manag Res.* 2021;13:2455-2475. doi:10.2147/CMAR.S302565
13. Zhou Y, Xia J, Xu S, et al. Experimental mouse models for translational human cancer research. *Front Immunol.* 2023;14. doi:10.3389/fimmu.2023.1095388
14. Ben-David U, Ho G, Tseng YY, et al. Patient-derived xenografts undergo mouse-specific tumor evolution. *Nat Genet.* 2017;49:1567-1575. doi:10.1038/ng.3967
15. Cheon DJ, Orsulic S. Mouse models of cancer. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:95-119. doi:10.1146/annurev.pathol.3.121806.154244
16. Romania P, Folgiere V, Nic M, et al. *Advanced Non-Animal Models in Biomedical Research: Immuno-Oncology.* Publications Office of the European Union; 2021:46. doi:10.2760/393670
17. Tricinci D, De Pasquale D, Marino A, Battaglini M, Pucci C, Ciofani G. A 3D biohybrid real-scale model of the brain cancer microenvironment for advanced in vitro testing. *Adv Mater Technol.* 2020;5(10):2000540. doi:10.1002/admt.202000540
18. Sun H, Sun L, Ke X, et al. Prediction of clinical precision chemotherapy by patient-derived 3D bioprinting models of colorectal cancer and its liver metastases. *Adv Sci (Wein).* 2024;11(2):2304460. doi:10.1002/advs.202304460
19. Ascick L, Gilmour L, Williams JA, et al. Investigating multi-material hydrogel three-dimensional printing for in vitro representation of the neo-vasculature of solid tumours: a comprehensive mechanical analysis and assessment of nitric oxide release from human umbilical vein endothelial cells. *R Soc Open Sci.* 2023;10(8):230929. doi:10.1098/rsos.230929
20. Dey M, Kim MH, Dogan M, et al. Chemotherapeutics and CAR-T cell-based immunotherapeutics screening on a 3D bioprinted vascularized breast tumor model. *Adv Funct Mater.* 2022;32(52):2203966. doi:10.1002/adfm.202203966
21. Palidoro MA, Ferrari E, Soldani C, et al. Cholangiocarcinoma-on-a-chip: a human 3D platform for personalised medicine. *JHEP Rep.* 2024;6(1). doi:10.1016/j.jhepr.2023.100910
22. Kim Y, Lee J, Lee S, Jung HI, Kwak B. Anisotropic tumor spheroid remission with binary tumor-microenvironment-on-a-chip. *Biosens Bioelectron.* 2024;243:115787. doi:10.1016/j.bios.2023.115787
23. Santheimer-Phelps A, Hassell BA, Ingber DE. Modelling cancer in microfluidic human organs-on-chips. *Nat Rev Cancer.* 2019;19(2):65-81. doi:10.1038/s41568-018-0104-6
24. McAleer CW, Long CJ, Elbrecht D, et al. Multi-organ system for the evaluation of efficacy and off-target toxicity of anticancer therapeutics. *Sci Transl Med.* 2019;11(497):eaav1386. doi:10.1126/scitranslmed.aav1386
25. Lim J, Rhee S, Choi H, et al. Engineering choroid plexus-on-a-chip with oscillatory flow for modeling brain metastasis. *Mater Today Bio.* 2023;22:100773. doi:10.1016/j.mtbio.2023.100773
26. Millen R, De Kart WWB, Koomen M, et al. Patient-derived head and neck cancer organoids allow treatment stratification and serve as a tool for biomarker validation and identification. *Med.* 2023;4(5):290-310.e12. doi:10.1016/j.medj.2023.04.003
27. Tan T, Mouradov D, Lee M, et al. Unified framework for patient-derived, tumor-organoid-based predictive testing of standard-of-care therapies in metastatic colorectal cancer. *Cell Rep Med.* 2023;4(12). doi:10.1016/j.xcrm.2023.101335
28. Raffa-Romero A, Ziane-Chaouche L, Salomé-Desnoullez S, et al. A co-culture system of macrophages with breast cancer tumouroids to study cell interactions and therapeutic responses. *Cell Rep Methods.* 2024;4(6). doi:10.1016/j.crmeth.2024.100792
29. Ethier SP, Guest ST, Garrett-Mayer E, et al. Development and implementation of the SUM breast cancer cell line functional genomics knowledge base. *NPJ Breast Cancer.* 2020;6(1):1-14. doi:10.1038/s41523-020-0173-z
30. Campbell P, Getz G, Korbel J, et al. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature.* 2020;578:82-93. doi:10.1038/s41586-020-1969-6
31. Dong X, Ding L, Thrasher A, et al. NetBID2 provides comprehensive hidden driver analysis. *Nat Commun.* 2023;14(1):2581. doi:10.1038/s41467-023-38335-6
32. Yang H, Zhao L, Li D, et al. Subtype-WGME enables whole-genome-wide multi-omics cancer subtyping. *Cell Rep Methods.* 2024;4(6):100781. doi:10.1016/j.crmeth.2024.100781
33. Meric-Bernstam F, Ford JM, O'Dwyer PJ, et al. National Cancer Institute Combination Therapy Platform Trial with Molecular Analysis for Therapy Choice (ComboMATCH). *Clin Cancer Res.* 2023;29(8):1412-1422. doi:10.1158/1078-0432.CCR-22-3334
34. Landhuis E. Deep learning takes on tumours. *Nature.* 2020;580(7804):551-553. doi:10.1038/D41586-020-01128-8
35. Acanda De La Rocha AM, Berlow NE, Fader M, et al. Feasibility of functional precision medicine for guiding treatment of relapsed or refractory pediatric cancers. *Nat Med.* 2024;30(4):990-1000. doi:10.1038/s41591-024-02848-4
36. Meaney C, Das S, Colak E, Kohandel M. Deep learning characterization of brain tumours with diffusion weighted imaging. *J Theor Biol.* 2023;557:111342. doi:10.1016/j.jtbi.2022.111342
37. Tan CL, Lindner K, Boschert T, et al. Prediction of tumor-reactive T cell receptors from scRNA-seq data for personalized T cell therapy. *Nat Biotechnol.* Published online 2024:1-9. doi:10.1038/s41587-024-02161-y
38. Jean-Quartier C, Jeanquartier F, Jurisica I, Holzinger A. In silico cancer research towards 3R. *BMC Cancer.* 2018;18(1):408. doi:10.1186/s12885-018-4302-0



© iStock.com/Panuwat Dangsungruen

## Enfermedad cardiovascular

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la primordial causa de muerte en todo el mundo, con aproximadamente 17,9 millones de víctimas al año, y se prevé que las tasas de mortalidad sigan aumentando.<sup>1</sup> A pesar de la disponibilidad de tratamientos para la ECV, la tasa de fracaso de nuevas terapias farmacológicas fue cercana al 75% en 2022, especialmente debido a las limitaciones de los modelos animales en el descubrimiento y la evaluación de medicamentos.<sup>2</sup> Un análisis de 121 estudios que usaron animales para la investigación de la ECV en humanos encontró que en el 79% de los casos sus resultados no lograron replicarse en humanos.<sup>3</sup>

Para estudiar la ECV en humanos, los experimentadores usan diversas especies animales, como ranas, ratas y vacas. Sin embargo, la etiología y la patología de la ECV en estos animales suelen diferir significativamente de las de los humanos.<sup>2,4</sup> La mayoría de las especies presenta parámetros cardiovasculares funcionales y

estructurales distintos, como la frecuencia cardíaca en reposo, los potenciales de acción, las isoformas proteicas, la contracción y la respuesta fuerza-frecuencia.<sup>5-7</sup> Otros animales también presentan mecanismos genéticos específicos que afectan la susceptibilidad a la ECV y la respuesta a los fármacos destinados al tratamiento en humanos.<sup>4,8,9</sup> Por ejemplo, los roedores son resistentes a la aterosclerosis,<sup>10</sup> un componente clave de la ECV. La enfermedad arterial coronaria, que conduce a la aterosclerosis, rara vez se produce en animales y es difícil de inducir, lo que frecuentemente requiere intervenciones quirúrgicas o farmacéuticas que no son relevantes en el contexto humano.<sup>11</sup>

Además, los factores de riesgo conductuales y ambientales, como la alimentación, el sedentarismo, el tabaquismo y la contaminación del aire,<sup>1</sup> son complejos y no se pueden reproducir de forma confiable en animales. Estos factores contribuyen a la limitada relevancia y a la escasa traslación clínica de los experimentos de ECV en animales. Como señalaron los autores de un estudio reciente, “la comprensión profunda de la progresión de la enfermedad es limitada. Este estancamiento se debe a la falta de modelos preclínicos biológicamente relevantes y robustos que permitan comprender de verdad los fundamentos moleculares de las enfermedades cardíacas y su fisiopatología”.<sup>12</sup>

Los métodos *in vitro* e *in silico* basados en la biología humana son más adecuados para la investigación cardiovascular que los modelos animales. Los investigadores han generado organoides cardíacos a partir de células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSC), que imitan la composición celular del corazón y se organizan para crear estructuras similares a los ventrículos. Estos organoides cardíacos pueden recapitular el deterioro funcional observado en afecciones como la fibrosis cardíaca y la miocardiopatía hipertrófica.<sup>13-15</sup> Un equipo de ingenieros en Taiwán desarrolló un sistema de chip microfluídico para cuantificar rápidamente cuatro biomarcadores de ECV y mejorar la intervención temprana.<sup>16</sup> Un estudio reciente demostró que la tecnología de corazón en chip puede utilizarse para modelar arritmias cardíacas.<sup>12,17</sup> Además, las técnicas de aprendizaje automático, en combinación con los datos de los pacientes, pueden crear modelos para predecir el riesgo de ECV, lo que permite una identificación más temprana de las enfermedades y resultados terapéuticos más eficaces.<sup>18-20</sup> Científicos y médicos han colaborado en el desarrollo de un algoritmo con datos clínicos que predice la progresión de la miocardiopatía hipertrófica a 10 años.<sup>21</sup> Por último, el modelado y la simulación *in silico* pueden emplearse para evaluar la información sobre los mecanismos de la fisiopatología cardíaca.<sup>22</sup> Estos métodos son plataformas valiosas para el estudio del corazón humano, la identificación y selección de medicamentos para el tratamiento de la ECV y la aplicación en medicina regenerativa y personalizada.

Si se tiene en cuenta que “no existe un modelo animal ideal para la investigación cardíaca”,<sup>6</sup> la investigación de la ECV debe evolucionar hacia métodos innovadores basados en células humanas y datos procedentes de pacientes. Estos

nuevos modelos experimentales son más costo-efectivos y recapitulan mejor la fisiología humana.<sup>12</sup> A diferencia de los modelos animales, los métodos de investigación sin animales proporcionan una información biológica más precisa de la función cardíaca y mejoran la traslación de los hallazgos preclínicos a la atención efectiva de los pacientes humanos.<sup>23-25</sup>

## Referencias

- World Health Organization. Cardiovascular diseases. 2024. Accessed November 3, 2024. <https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases>
- Joint Research Centre [European Commission]. World Heart Day: Non-animal models as promising tools to fight cardiovascular diseases—European Commission. September 28, 2022. Accessed November 3, 2024. [https://joint-research-centre.ec.europa.eu/jrc-news-and-updates/world-heart-day-non-animal-models-promising-tools-fight-cardiovascular-diseases-2022-09-28\\_en](https://joint-research-centre.ec.europa.eu/jrc-news-and-updates/world-heart-day-non-animal-models-promising-tools-fight-cardiovascular-diseases-2022-09-28_en)
- Vyas MV, Gros R, Hackam DG. Translation of cardiovascular animal models to human randomized trials. *Am J Cardiol*. 2020;137:141. doi:10.1016/j.amjcard.2020.10.027
- Zaragoza C, Gomez-Guerrero C, Martin-Ventura JL, et al. Animal models of cardiovascular diseases. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011(1):497841. doi:10.1155/2011/497841
- Gintang G, Sager PT, Stockbridge N. Evolution of strategies to improve preclinical cardiac safety testing. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15(7):457-471. doi:10.1038/nrd.2015.34
- Milani-Nejad N, Janssen PML. Small and large animal models in cardiac contraction research: advantages and disadvantages. *Pharmacol Ther*. 2014;141(3):235-249. doi:10.1016/j.pharmthera.2013.10.007
- Janssen PM, Elnakish MT. Modeling heart failure in animal models for novel drug discovery and development. *Expert Opin Drug Discov*. 2019;14(4):355. doi:10.1080/17460441.2019.1582636
- Chorro FJ, Such-Belenguier L, López-Merino V. Modelos animales de enfermedad cardiovascular. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(1):69-84. doi:10.1016/S0300-8932(09)70023-5
- Del Álamo JC, Lemons D, Serrano R, et al. High throughput physiological screening of iPSC-derived cardiomyocytes for drug development. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1863(7 Pt B):1717-1727. doi:10.1016/j.bbmr.2016.03.003
- Barter P, Rye KA. Cholesteryl ester transfer protein inhibition to reduce cardiovascular risk: where are we now? *Trends Pharmacol Sci*. 2011;32(12):694-699. doi:10.1016/j.tips.2011.07.004
- Celi S, Cioffi M, Capellini K, et al. *Advanced Non-Animal Models in Biomedical Research: Cardiovascular Diseases*. European Commission Joint Research Centre; 2022. doi:10.2760/94608
- van Doorn ECH, Amez JH, Sodeghi AH, de Groot NMS, Manintveld OC, Taverne YJH. Preclinical models of cardiac disease: a comprehensive overview for clinical scientists. *Cardiovasc Eng Tech*. 2024;15(2):232-249. doi:10.1007/s13239-023-00707-w
- Ho BX, Pang JKS, Chen Y, et al. Robust generation of human-chambered cardiac organoids from pluripotent stem cells for improved modelling of cardiovascular diseases. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13(1):529. doi:10.1186/s13287-022-03215-1
- Yang J, Lei W, Xiao Y, et al. Generation of human vascularized and chambered cardiac organoids for cardiac disease modelling and drug evaluation. *Cell Prolif*. 2024;57(8):e13631. doi:10.1111/cpr.13631
- Song M, Choi DB, Im JS, et al. Modeling acute myocardial infarction and cardiac fibrosis using human induced pluripotent stem cell-derived multi-cellular heart organoids. *Cell Death Dis*. 2024;15(5):308. doi:10.1038/s41419-024-06703-9
- Li PR, Kiran Bailla S, Wang CH, et al. A self-driven, microfluidic, integrated-circuit biosensing chip for detecting four cardiovascular disease biomarkers. *Biosens Bioelectron*. 2024;249:115931. doi:10.1016/j.bios.2023.115931
- Williams K, Liang T, Massé S, et al. A 3-D human model of complex cardiac arrhythmias. *Acta Biomaterialia*. 2021;132:149-161. doi:10.1016/j.actbio.2021.03.004
- Dalal S, Goel P, Onyema EM, et al. Application of machine learning for cardiovascular disease risk prediction. *Bhardwaj A, ed. Comput Intell Neurosci*. 2023;2023(1):9418666. doi:10.1155/2023/9418666
- Baghdadi NA, Farghly Abdelaltem SM, Malki A, Gad I, Eweis A, Atlam E. Advanced machine learning techniques for cardiovascular disease early detection and diagnosis. *J Big Data*. 2023;10(1):144. doi:10.1186/s40537-023-00817-1
- Pal M, Parija S, Panda G, Dhama K, Mohapatra RK. Risk prediction of cardiovascular disease using machine learning classifiers. *Open Med [Wars]*. 2022;17(1):1100-1113. doi:10.1515/med-2022-0508
- Pičulin M, Smole T, Žunković B, et al. Disease progression of hypertrophic cardiomyopathy: modeling using machine learning. *JMIR Med Inform*. 2022;10(2):e30483. doi:10.2196/30483
- Margara F, Wang ZJ, Levrero-Florencia F, et al. In-silico human electro-mechanical ventricular modelling and simulation for drug-induced pro-arrhythmia and inotropic risk assessment. *Prog Biophys Mol Biol*. 2021;159:58-74. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2020.06.007
- Ram R. Extrapolation of animal research data to humans: an analysis of the evidence. In: Herrmann K, Jayne K, eds. *Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change*. BRILL; 2019:341-375. doi:10.1163/9789004391192\_016
- Whiting R, Sander E, Conway C, Vaughan TJ. In silico modelling of aortic valve implants—predicting in vitro performance using finite element analysis. *J Med Eng Technol*. 2022;46(3):220-230. doi:10.1080/03091902.2022.2026506
- Abbassy M, Ali MZ, Sharma RM, et al. Biosensors with left ventricular assist devices. *Heart Fail Rev*. 2024;29(5):957-967. doi:10.1007/s10741-024-10413-x



## Terapia celular

La terapia celular adoptiva (terapia celular) consiste en trasplantar células humanas para reparar o reemplazar tejidos dañados. Esta terapia usa células madre hematopoyéticas, células madre mesenquimales y células inmunitarias obtenidas de los propios pacientes (autólogas) o de donantes (allogénicas) para tratar diversas afecciones.<sup>1,2</sup> La terapia celular se ha estudiado para tratar enfermedades relacionadas con la sangre, cánceres sólidos y diabetes, y para aplicaciones en medicina regenerativa.<sup>1,3-6</sup>

La investigación en terapia celular suele realizarse en animales, en su mayoría ratones modificados genéticamente, y presenta limitaciones significativas. Los experimentos en animales suelen usar individuos jóvenes y sanos, que no reflejan la compleja etiología de las enfermedades humanas, a menudo influidas por la edad y las comorbilidades. Los experimentos en animales carecen del análisis y el seguimiento a largo plazo necesarios para evaluar la eficacia en humanos, lo que plantea un reto a la hora de predecir los resultados.<sup>7</sup> Además, las diferencias inmunológicas y fisiológicas entre especies derivan en una mala traslación de los resultados.

Aunque se ha aprobado el uso de algunas terapias celulares, estos tratamientos siguen planteando dificultades, especialmente en el caso de los cánceres sólidos, debido a la heterogeneidad de los tumores y a la escasez de antígenos tumorales específicos.<sup>8</sup> Las terapias diseñadas con células T de receptores de antígenos quiméricos (CAR) han mostrado actividad antitumoral en experimentos en ratones, pero no han funcionado en ensayos clínicos en humanos para cáncer de ovario y cáncer metastásico de células renales.<sup>9,10</sup> Una de las causas de este fracaso es que en los estudios preclínicos suelen usarse ratones inmunodeficientes con tumores humanos xenoinjertados, mientras que en la práctica clínica estas células actúan dentro del sistema inmunitario complejo e intacto del paciente.<sup>11</sup> Para más información sobre los problemas de los modelos de xenoinjerto en ratón, vea la sección sobre cáncer (p. 25).

Dado que los animales no reproducen con exactitud la biología humana, tampoco pueden predecir de manera confiable los efectos adversos de las terapias celulares, como el síndrome de liberación de citocinas y la neurotoxicidad asociada a las células efectoras inmunitarias. Además, la variabilidad en la preparación y caracterización de las células durante los experimentos preclínicos

en animales puede dar lugar a resultados inconsistentes e irreproducibles.<sup>7</sup>

Los métodos preclínicos sin animales para estudiar y probar terapias celulares incluyen modelos *in vitro*, como los organoides y aquellos que usan hiPSC. Estos modelos reproducen la fisiología humana con mayor exactitud, lo que permite la evaluación de una gran cantidad de fármacos, la identificación de mecanismos específicos para humanos y el desarrollo de enfoques de medicina personalizada.<sup>12,13</sup> Maulana y colaboradores introdujeron un modelo en chip de cáncer de mama derivado de pacientes que permite el monitoreo en tiempo real de la actividad de las células T CAR y la prevención del síndrome de liberación de citocinas con un fármaco aprobado por la FDA.<sup>14</sup> En otro estudio, en el que se utilizaron muestras de pacientes y datos clínicos, se identificó el CD22 como marcador potencial para el desarrollo de la terapia con células T CAR en el cáncer de mama triple negativo, que, a pesar de los ensayos clínicos de terapia celular en curso, carece actualmente de tratamiento.<sup>15,16</sup>

El interés por las terapias celulares adoptivas ha aumentado en la última década y sigue extendiéndose a diversos tipos de cáncer y otras enfermedades. Los recientes avances en las tecnologías de ingeniería, los modelos humanos *in vitro* y las terapias combinadas están mejorando el desarrollo de la terapia celular, ya que proporcionan plataformas robustas para estudiar los mecanismos de las enfermedades y las intervenciones terapéuticas, además de arrojar resultados más aplicables.

## Referencias

1. American Association for the Advancement of Blood & Biotherapies. Facts about cellular therapies. www.aabb.org. 2024. Accessed October 1, 2024. <https://www.aabb.org/news-resources/resources/cellular-therapies/facts-about-cellular-therapies>
2. American Society of Gene & Cell Therapy. Cell therapy basics. asgct.org. December 18, 2023. Accessed October 1, 2024. <https://patienteducation.asgct.org/gene-therapy-101/cell-therapy-basics>
3. Dey M, Kim MH, Dagan M, et al. Chemotherapeutics and CAR-T cell-based immunotherapeutics screening on a 3D bioprinted vascularized breast tumor model. *Adv Funct Mater*. 2022;32(52):2203966. doi:10.1002/adfm.202203966
4. Ying Li CM, Li R, Drew P, et al. Clinical application of cytokine-induced killer (CIK) cell therapy in colorectal cancer: current strategies and future challenges. *Cancer Treat Rev*. 2024;122:102665. doi:10.1016/j.ctrv.2023.102665
5. U.S. Food and Drug Administration. FDA approves first cellular therapy to treat patients with type 1 diabetes. FDA.gov. June 28, 2023. Accessed October 1, 2024. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-cellular-therapy-treat-patients-type-1-diabetes>
6. Thai VL, Ramos-Rodriguez DH, Mesfin M, Leach JK. Hydrogel degradation promotes angiogenic and regenerative potential of cell spheroids for wound healing. *Mater Today Bio*. 2023;22:100769. doi:10.1016/j.mtbio.2023.100769
7. Harding J, Roberts RM, Mirachnitchenko O. Large animal models for stem cell therapy. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4(2):23. doi:10.1186/scrt171
8. Hu C, Liu M, Li Y, et al. Recent advances and future perspectives of CAR-T cell therapy in head and neck cancer. *Front Immunol*. 2023;14. doi:10.3389/fimmu.2023.1213716
9. Kershaw MH, Westwood JA, Parker LL, et al. A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(20):6106-6115. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-1183
10. Lamers CHJ, Sleijfer S, Vulto AG, et al. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with autologous T-lymphocytes genetically retargeted against carbonic anhydrase IX: first clinical experience. *J Clin Oncol*. 2006;24(13):e20-e22. doi:10.1200/JCO.2006.05.9964
11. Seattle Children's. Mouse model for CAR-T therapy. seattlechildrens.org. 2024. Accessed October 2, 2024. <https://www.seattlechildrens.org/research/centers-programs/science-industry-partnerships/partnership-opportunities/cancer-mouse-model-for-car-t-therapy/>
12. Kleiman RJ, Engle SJ. Human inducible pluripotent stem cells: realization of initial promise in drug discovery. *Cell Stem Cell*. 2021;28(9):1507-1515. doi:10.1016/j.stem.2021.08.002
13. Cernekis J, Cai H, Shi Y. Induced pluripotent stem cells (iPSCs): molecular mechanisms of induction and applications. *Sig Transduct Target Ther*. 2024;9(1):1-26. doi:10.1038/s41392-024-01809-0

14. Maulana TI, Teufel C, Cipriano M, et al. Breast cancer-on-chip for patient-specific efficacy and safety testing of CAR-T cells. *Cell Stem Cell*. 2024;31(7):989-1002.e9. doi:10.1016/j.stem.2024.04.018
15. Dees S, Ganesan R, Singh S, Grewal IS. Emerging CAR-T cell therapy for the treatment of triple-negative breast cancer. *Mol Cancer Ther*. 2020;19(12):2409-2421. doi:10.1158/1535-7163.MCT-20-0385
16. Zaib T, Cheng K, Liu T, et al. Expression of CD22 in triple-negative breast cancer: a novel prognostic biomarker and potential target for CAR therapy. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3):2152. doi:10.3390/ijms24032152

## Diabetes

Durante muchos años, los experimentadores han inducido intencionalmente síntomas de diabetes mellitus (diabetes) en roedores, cerdos, perros y primates.<sup>1</sup> Sin embargo, estos modelos presentan limitaciones considerables, como la diferencia en la progresión de la enfermedad en comparación con los humanos. Para intentar reproducir la patología de la diabetes en animales, los experimentadores inducen los síntomas mediante una alimentación inadecuada y la destrucción química o viral de las células beta pancreáticas, pero su empeño ha fracasado sistemáticamente debido a importantes limitaciones, como la necrosis tisular y las diferencias en la susceptibilidad de cada especie a la diabetes.<sup>2,3</sup>

Más allá de las limitaciones técnicas, el uso de animales para estudiar la diabetes también plantea limitaciones biológicas significativas en relación con la anatomía, la fisiología y la vulnerabilidad a la enfermedad.<sup>4,5</sup> Por ejemplo, los ratones dependen principalmente del hígado para la homeostasis de la glucosa, mientras que en el caso de los humanos, el músculo esquelético también es crucial en el metabolismo de la glucosa.<sup>6</sup> Además, algunos modelos de ratones transgénicos de diabetes tipo 2 se basan en la deficiencia de leptina, que no contribuye de manera esencial a la diabetes en humanos.<sup>7</sup> Debido a la baja tasa de diabetes espontánea (solo el 2%), el modelo de rata LEW-iddm para diabetes tipo 1 requiere alteraciones compensatorias en la gama de células inmunológicas de la rata para desarrollar un perfil diabético, pero sigue sin replicar fielmente la condición humana.<sup>1,8</sup> Del mismo modo, el páncreas humano difiere del de los roedores en su arquitectura tisular y composición celular, así como en los mecanismos de regulación de la insulina.<sup>9</sup>

Muchos fármacos desarrollados para tratar la diabetes tienen efectos secundarios adversos, como edemas, riesgo cardíaco y aumento de peso, y algunos fármacos han sido retirados del mercado.<sup>10,11</sup> Hallazgos recientes revelan importantes diferencias entre las personas con diabetes tipo 2 en cuanto a la patología, el entorno, el origen étnico y las respuestas al tratamiento,<sup>12-15</sup> lo que evidencia por qué la heterogeneidad de esta enfermedad no puede reproducirse en animales. En consecuencia, los experimentos en animales no han dado lugar a resultados transferibles a los humanos.<sup>2,5</sup>

Dado que siguen identificándose diferencias entre especies, existe una clara necesidad de avanzar en la investigación sobre la diabetes mediante el uso de métodos basados en la biología humana que permitan cerrar la brecha entre los experimentos

preclínicos y los ensayos clínicos, y descubrir nuevas formas de prevenir la progresión de la enfermedad.<sup>2,4,16</sup>

Se han desarrollado numerosos modelos de órgano en chip para estudiar la resistencia a la insulina y la función glomerular de la nefropatía diabética, descubrir mecanismos biológicos y explorar oportunidades de tratamiento eficaces. Por ejemplo, un glomérulo en chip con células humanas permite a los investigadores evaluar el daño renal inducido por niveles altos de glucosa.<sup>17</sup> En otro estudio, el glomérulo en chip imitó la respuesta renal humana *in vivo* a lesiones en pacientes expuestos a suero y agentes tóxicos, lo que proporcionó una herramienta valiosa para investigar el daño renal.<sup>18</sup> En otro modelo 3D, se utilizaron islotes de páncreas cadavéricos para hacer mediciones continuas de insulina, lo que constituye un modelo escalable para estudiar la diabetes y evaluar medicamentos.<sup>19</sup> El modelado *in silico* con datos de personas con diabetes también muestra resultados prometedores.<sup>20-22</sup> Por ejemplo, en un estudio clínico con personas sanas se probó un modelo diseñado para cuantificar la insulina plasmática endógena e inhalada después de una comida, que puede ayudar a estimar la biodisponibilidad y la farmacocinética de la insulina inhalada en humanos.<sup>23</sup>

Se están explorando muchos otros modelos humanos en 3D, como las células madre<sup>5,25</sup> y los islotes pancreáticos,<sup>26-28</sup> para el desarrollo de medicamentos y futuros trasplantes de órganos en personas con diabetes.<sup>2,24</sup> Estos enfoques innovadores, basados en células de pacientes, tienen el potencial de acelerar la investigación sobre la diabetes humana, ya que permiten investigar los mecanismos biológicos subyacentes a las complicaciones inducidas por esta enfermedad que no pueden reproducirse en experimentos en animales.<sup>3,29</sup>

## Referencias

1. Singh R, Gholipourmalekabadi M, Shafikhani SH. Animal models for type 1 and type 2 diabetes: advantages and limitations. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024;15:1359685. doi:10.3389/fendo.2024.1359685
2. Pandey S, Chmelir T, Chottova Dvorakova M. Animal models in diabetic research—history, presence, and future perspectives. *Biomedicines*. 2023;11(10):2852. doi:10.3390/biomedicines11102852
3. Kottaisamy CPD, Raj DS, Prasanth Kumar V, Sankaran U. Experimental animal models for diabetes and its related complications—a review. *Lab Anim Res*. 2021;37(1):23. doi:10.1186/s42826-021-00101-4
4. Bunner AE, Chandrasekera PC, Barnard ND. Knockout mouse models of insulin signaling: relevance past and future. *World J Diabetes*. 2014;5(2):146-159. doi:10.4239/wjdv.5.i2.146
5. Rogal J, Zbinden A, Schenke-Layland K, Loskill P. Stem-cell based organ-on-a-chip models for diabetes research. *Adv Drug Deliv Rev*. 2019;140:101-128. doi:10.1016/j.addr.2018.10.010
6. Chandrasekera PC, Pippin JJ. Of rodents and men: species-specific glucose regulation and type 2 diabetes research. *ALTEX*. 2014;31(2):157-176. doi:10.14573/altext.1309231
7. Wang B, P. CC, Pippin JJ. Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes. *Curr Diabetes Rev*. 2014;10(2):131-145. doi:10.2174/1573399810666140508121012
8. Arndt T, Jörns A, Hedrich HJ, Lenz S, Wedekind D. Variable immune cell frequencies in peripheral blood of LEW1A1R1-iddm rats over time compared to other congenic LEW strains. *Clin Exp Immunol*. 2014;177(1):168-178. doi:10.1111/cei.12323
9. Mir-Coll J, Moede T, Paschen M, et al. Human islet microtissues as an in vitro and an in vivo model system for diabetes. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):1813. doi:10.3390/ijms22041813
10. Joksimovic SE, Jevtic-Todorovic V, Todorovic SM. The mechanisms of plasticity of nociceptive ion channels in painful diabetic neuropathy. *Front Pain Res (Lausanne)*. 2022;3:869735. doi:10.3389/fpain.2022.869735
11. Fitchett DH, Udell JA, Inzucchi SE. Heart failure outcomes in clinical trials of glucose-lowering agents in patients with diabetes. *Eur J Heart Fail*. 2017;19(1):43-53. doi:10.1002/ehf.633
12. Lieschke GJ, Currie PD. Animal models of human disease: zebrafish swim into view. *Nat Rev Genet*. 2007;8(5):353-367. doi:10.1038/nrg2091
13. Covington BA, Chen W. Animal models for understanding the mechanisms of beta cell death during type 2 diabetes pathogenesis. *Biomedicines*. 2024;12(3):473. doi:10.3390/biomedicines12030473

14. Inaishi J, Saisha Y. Ethnic similarities and differences in the relationship between beta cell mass and diabetes. *J Clin Med*. 2017;6(12):113. doi:10.3390/jcm6120113
15. Kusuyama J, Alves-Wagner AB, Makarewicz NS, Goodyear LJ. Effects of maternal and paternal exercise on offspring metabolism. *Nat Metab*. 2020;2(9):858-872. doi:10.1038/s42255-020-00274-7
16. Ali Z, Chandrasekera PC, Pippin JJ. Animal research for type 2 diabetes mellitus, its limited translation for clinical benefit, and the way forward. *Altern Lab Anim*. 2018;46(1):13-22. doi:10.1177/026119291804600101
17. Petrosyan A, Cravedi P, Villani V, et al. A glomerulus-on-a-chip to recapitulate the human glomerular filtration barrier. *Nat Commun*. 2019;10(1):3656. doi:10.1038/s41467-019-11577-z
18. Perin L, Da Sacco S. Generation of a glomerular filtration barrier on a glomerulus-on-a-chip platform. *Methods Mol Biol*. 2022;2373:121-131. doi:10.1007/978-1-0716-1693-2\_8
19. Gliberman AL, Pope BD, Zimmerman JF, et al. Synchronized stimulation and continuous insulin sensing in a microfluidic human islet on a chip designed for scalable manufacturing. *Lab Chip*. 2019;19(18):2993-3010. doi:10.1039/C9LC00253G
20. Riyaphan J, Pham DC, Leang MK, Weng CF. In silico approaches to identify polyphenol compounds as  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitors against type-II diabetes. *Biomolecules*. 2021;11(12):1877. doi:10.3390/biom11121877
21. Moinal M, Amin SA, Kumar P, et al. Exploring sodium glucose cotransporter (SGLT2) inhibitors with machine learning approach: a novel hope in anti-diabetes drug discovery. *J Mol Graph Model*. 2022;111:108106. doi:10.1016/j.jmgm.2021.108106
22. Han K, Ma S, Sun J, et al. In silico modeling of patient-specific blood rheology in type 2 diabetes mellitus. *Biophys J*. 2023;122(8):1445-1458. doi:10.1016/j.bpj.2023.03.010
23. Piersanti A, Pacini G, Tura A, D'Argenio DZ, Morettini M. An in-silico modeling approach to separate exogenous and endogenous plasma insulin appearance, with application to inhaled insulin. *Sci Rep*. 2024;14(1):10936. doi:10.1038/s41598-024-61293-y
24. Saïding Q, Ma J, Ke C, Cui W. From "organs on a chip" to "patient on a chip." *Innovation*. 2022;3(5). doi:10.1016/j.xinn.2022.100282
25. Tao T, Wang Y, Chen W, et al. Engineering human islet organoids from iPSCs using an organ-on-chip platform. *Lab Chip*. 2019;19(6):948-958. doi:10.1039/C8LC01298A
26. Rodríguez-Comas J, Ramón-Azcón J. Islet-on-a-chip for the study of pancreatic  $\beta$ -cell function. *In vitro models*. 2022;1(1):41-57. doi:10.1007/s44164-021-00005-6
27. Abadpour S, Aizenshtadt A, Olsen PA, et al. Pancreas-on-a-chip technology for transplantation applications. *Curr Diab Rep*. 2020;20(12):72. doi:10.1007/s11892-020-01357-1
28. Sokolowska P, Zukowski K, Janikiewicz J, Jastrzebska E, Dobrzyn A, Brzozka Z. Islet-on-a-chip: biomimetic micropillar-based microfluidic system for three-dimensional pancreatic islet cell culture. *Biosens Bioelectron*. 2021;183:113215. doi:10.1016/j.bios.2021.113215
29. Kim M, Jang J. Construction of 3D hierarchical tissue platforms for modeling diabetes. *APL Bioeng*. 2021;5(4):041506. doi:10.1063/5.0055128

## VIH/sida

La incapacidad de extrapolar los experimentos en animales a aplicaciones humanas eficaces de las vacunas contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se reconoció hace 30 años, cuando, en 1995, los NIH instituyeron una moratoria sobre la reproducción de chimpancés, la especie más usada en ese momento en la investigación sobre el VIH y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida), y se reconoció que los estudios en esta especie no habían logrado producir datos clínicamente útiles. Posteriormente, los experimentadores comenzaron a usar otras especies de primates no humanos, sobre todo macacos.

Dado que los humanos son los únicos primates que pueden contraer el VIH y desarrollar sida, en su lugar, los experimentadores infectan a los monos con el virus de la inmunodeficiencia de los simios (VIS), un virus exclusivo de los primates africanos. La homología genética entre el VIH y el VIS es solo del 55%, y el VIS es menos diverso genéticamente que el VIH.<sup>12</sup> Debido a las diferencias en las proteínas de superficie y otros marcadores moleculares, los anticuerpos que neutralizan el VIS no tienen efecto sobre el VIH y viceversa.<sup>3</sup> Es importante destacar que la dosis de VIS administrada a un primate no humano en un experimento suele ser muy superior a la cantidad típica de VIH-1 a la que se expone un humano durante la transmisión sexual.<sup>4</sup> A veces, los experimentadores utilizan una mezcla diseñada de VIS/VIH. De acuerdo con Mark Girard, investigador en esta área, “[h]ay que darse cuenta de que todavía no sabemos cómo se compara el modelo del VIS o el VISH con la infección de VIH en humanos. Extrapolar los resultados de protección de la vacuna en estudios en primates no humanos a la eficacia en seres humanos puede ser engañoso”.<sup>5</sup>

Incluso aquellos que usan primates no humanos como modelos del VIH han admitido que estos animales “no permiten realizar pruebas directas de vacunas contra el VIH” y que “debido a la complejidad y las limitaciones de los modelos de primates no humanos, sigue siendo difícil extrapolar datos de estos modelos para desarrollar vacunas contra el VIH”.<sup>6</sup> Los experimentadores han desarrollado decenas de vacunas potenciales en monos, pero todas han fracasado en los ensayos en humanos.<sup>7</sup> Al menos dos ensayos clínicos han resultado en un aumento de la probabilidad de infección por VIH en humanos.<sup>8,9</sup> Tras uno de los ensayos fallidos de vacunas, Anthony Fauci, exdirector del Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas de EE. UU., reconoció que los resultados positivos originales de un estudio en macacos “podrían ser una casualidad”.<sup>10</sup>

De acuerdo con científicos que trabajan en esta área, “[l]os modelos animales existentes que predicen las traslaciones clínicas son simplistas, extremadamente reduccionistas y, por lo tanto, no son adecuados.”<sup>11</sup> Además, los datos de abandono en ensayos clínicos “vuelven a centrar la atención en la selección temprana de objetivos/generación de candidatos potenciales, pero también cuestionan la idoneidad de los modelos animales actuales en



## Inflamación e inmunología

El uso de animales para estudiar la inflamación y la inmunología humanas abarca gran parte de la investigación básica y relacionada con las enfermedades. Analizaremos brevemente tres áreas principales: el uso de animales para la investigación del VIH/sida, el uso de ratones para la investigación inmunológica humana y el uso de animales para estudiar la septicemia humana.

términos de su congruencia con los hallazgos en huéspedes humanos y su extrapolación”<sup>11</sup> a dichos huéspedes.

Debido a los numerosos fracasos en la investigación sobre el VIH/sida en primates no humanos, los experimentadores han migrado al uso de ratones, una especie aún más distante genéticamente de los humanos. El modelo de ratón “humanizado” para la investigación del VIH/sida es un ratón repoblado parcialmente con células inmunitarias humanas que permiten infectar al animal con el VIH-1. Sin embargo, los ratones humanizados infectados tienen una longevidad limitada y conservan partes de su sistema inmunitario, lo que “complica las interpretaciones de la respuesta inmunitaria”.<sup>3</sup> No es sorprendente que el uso de ratones humanizados tampoco haya generado resultados útiles para el tratamiento clínico del VIH/sida.

Al considerar las diferencias entre un entorno de laboratorio y la sociedad humana, está claro que los experimentos en animales nunca captarán la complejidad de esta enfermedad. Las ratas y los ratones usados en los experimentos se mantienen en condiciones en las que los patógenos primarios son los que se encuentran en sus heces, y los cofactores que pueden estar presentes en los pacientes humanos, como otras infecciones microbianas, están ausentes. Esta falta de cofactores altera de manera significativa la adquisición y la progresión del virus.<sup>1</sup> Por otra parte, se ha descubierto que los primates no humanos usados en la investigación del VIH albergan infecciones como la coccidiodiomicosis, que constituyen variables de confusión y comprometen los resultados de los estudios sobre el VIH.<sup>12</sup>

Los científicos admiten que, después de realizar costosos y poco fiables experimentos en animales, aún hacen falta datos en humanos para determinar si un medicamento es apto para el ámbito clínico. Los miembros del Programa Militar de Investigación sobre el VIH de EE. UU. señalaron que, “al parecer, los ensayos clínicos en humanos siguen siendo la única forma fiable de determinar si una vacuna candidata contra el VIH tendrá actividad o eficacia en humanos”,<sup>13</sup> algo que ya en 2007 el editor asociado de *The BMJ* señalaba: “[c]uando se trata de probar vacunas contra el VIH, solo servirá hacerlo en humanos”.<sup>14</sup> Los investigadores reconocen que se necesitan modelos humanos *in vitro* capaces de replicar esta enfermedad humana y desarrollar tratamientos.<sup>15</sup>

Entre las investigaciones recientes sin animales sobre el VIH se incluyen simulaciones interactivas de dinámica molecular para predecir cómo se unirán las moléculas de fármacos a las proteínas del VIH,<sup>16-19</sup> técnicas novedosas de diagnóstico por imágenes que revelan aspectos previamente desconocidos de la estructura del VIH y abren la posibilidad a nuevas terapias,<sup>20</sup> y análisis bioinformáticos de muestras de individuos con viremia y células infectadas *in vitro* de donantes sanos para generar un atlas de fenotipos celulares susceptibles al VIH.<sup>21</sup> Además, los análisis multiómicos unicelulares de muestras de donantes sanos y aquellos infectados con VIH han revelado diferencias en las poblaciones de células T, la expresión de proteínas y la expresión

de glicanos que podrían ser determinantes en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas al sistema inmunitario.<sup>22-24</sup>

Científicos de todo el mundo han estado estudiando las células inmunitarias de individuos llamados “controladores del VIH”, que pueden infectarse con el VIH, pero pueden controlar la propagación del virus sin requerir intervención terapéutica.<sup>25-29</sup> La esperanza es que las células inmunitarias de los controladores del VIH puedan transferirse a personas infectadas con VIH para ayudarlas a combatir el virus. Esta prometedora investigación es específica para los humanos y requiere métodos basados en la biología humana.<sup>30</sup>

## Referencias

1. Antony JM, MacDonald KS. A critical analysis of the cynomolgus macaque, *Macaca fascicularis*, as a model to test HIV-1/SIV vaccine efficacy. *Vaccine*. 2015;33(27):3073-3083. doi:10.1016/j.vaccine.2014.12.004
2. Centlivre M, Combadière B. New challenges in modern vaccinology. *BMC Immunol*. 2015;16(1):18. doi:10.1186/s12865-015-0075-2
3. Haigwood NL. Update on animal models for HIV research. *Eur J Immunol*. 2009;39(8):1994-1999. doi:10.1002/eji.200939576
4. Julg B, Barouch DH. Novel immunological strategies for HIV-1 eradication. *J Virus Erad*. 2015;1(4):232-236.
5. Girard M, Habel A, Chanel C. New prospects for the development of a vaccine against human immunodeficiency virus type 1. An overview. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*. 1999;322(11):959-966. doi:10.1016/S0764-4469(00)87193-0
6. Hu SL. Non-human primate models for AIDS vaccine research. *Curr Drug Targets Infect Disord*. 2005;5(2):193-201. doi:10.2174/1568005054201508
7. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. History of HIV vaccine research. *niaid.nih.gov*. October 22, 2018. Accessed December 5, 2024. <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/hiv-vaccine-research-history>
8. PreEPVacc. HIV vaccines tested in PreEPVacc fail to reduce infections. July 23, 2024. Accessed October 18, 2024. <https://www.prepivacc.org/news/hiv-vaccines-tested-in-prepivacc-fail-to-reduce-infections-23-july-news-release>
9. Sekaly RP. The failed HIV Merck vaccine study: a step back or a launching point for future vaccine development? *J Exp Med*. 2008;205(11):7-12. doi:10.1084/jem.20072681
10. Cohen J. “It’s sobering”: a once-exciting HIV cure strategy fails its test in people. *Science*. July 25, 2018. Accessed February 7, 2022. <https://www.science.org/content/article/it-s-sobering-once-exciting-hiv-curestrategy-fails-its-test-people>
11. Matthews H, Hanison J, Nirmalan N. “Omics”-informed drug and biomarker discovery: opportunities, challenges and future perspectives. *Proteomes*. 2016;4(3):28. doi:10.3390/proteomes4030028
12. O’Dell R. Sickness and death at Mesa-area monkey farm threaten primate center viability. *azcentral.com*. October 5, 2021. Accessed March 2, 2022. <https://www.azcentral.com/wp-content/uploads/2021/10/202110-04-Sickness-and-death-at-Mesa-area-monkey-farm-threaten-primate-center-viability.pdf>
13. Rao M, Alving CR. Adjuvants for HIV vaccines. *Curr Opin HIV AIDS*. 2016;11(6):585-592. doi:10.1097/COH.0000000000000315
14. Tanks A. Quest for the AIDS vaccine. *BMJ*. 2007;334(7608):1346-1348. doi:10.1136/bmj.39240.416968.AD
15. Kumar N, Chahroudi A, Silvestri G. Animal models to achieve an HIV cure. *Curr Opin HIV AIDS*. 2016;11(4):432-441. doi:10.1097/COH.0000000000000290
16. Deeks HM, Walters RK, Hare SR, O’Connor MB, Mulholland AJ, Glowacki DR. Interactive molecular dynamics in virtual reality for accurate flexible protein-ligand docking. *Paci E, ed. PLoS One*. 2020;15(3):e0228461. doi:10.1371/journal.pone.0228461
17. Baassi M, Moussaoui M, Soufi H, et al. Towards designing of a potential new HIV-1 protease inhibitor using QSAR study in combination with molecular docking and molecular dynamics simulations. *Ghosh A, ed. PLoS One*. 2023;18(4):e0284539. doi:10.1371/journal.pone.0284539
18. Zhang YJ, Chen L, Xu J, et al. Evaluation of novel HIV-1 protease inhibitors with DRV-resistance by utilizing 3D-QSAR molecular docking and molecular dynamics simulation. *New J Chem*. 2022;46(45):21885-21897. doi:10.1039/D2NJ04492G
19. Wang R, Zheng Q. Multiple molecular dynamics simulations and energy analysis unravel the dynamic properties and binding mechanism of mutants HIV-1 protease with DRV and CA-p2. *Microbiol Spectr*. 2022;10(2):e0074821. doi:10.1128/spectrum.00748-21
20. Saha I, Saffarian S. Dynamics of the HIV Gag lattice detected by localization correlation analysis and time-lapse iPALM. *Biophys J*. 2020;119(3):581-592. doi:10.1016/j.bpj.2020.06.023
21. Xie G, Luo X, Ma T, et al. Characterization of HIV-induced remodeling reveals differences in infection susceptibility of memory CD4+ T cell subsets in vivo. *Cell Rep*. 2021;35(4):109038. doi:10.1016/j.celrep.2021.109038
22. Collora JA, Liu R, Pinto-Santini D, et al. Single-cell multiomics reveals persistence of HIV-1 in expanded cytotoxic T cell clones. *Immunity*. 2022;55(6):1013-1031.e7. doi:10.1016/j.immuni.2022.03.004

23. Mo T, McGregor M, Giron L, et al. Single-cell glycomics analysis by CyTOF-Lec reveals glycan features defining cells differentially susceptible to HIV. *eLife*. 2022;11:e78870. doi:10.7554/eLife.78870
24. Wang XM, Zhang JY, Xing X, et al. Global transcriptomic characterization of T cells in individuals with chronic HIV-1 infection. *Cell Discov*. 2022;8(1):29. doi:10.1038/s41421-021-00367-x
25. Galperin M, Farenc C, Mukhopadhyay M, et al. CD4 + T cell-mediated HLA class II cross-restriction in HIV controllers. *Sci Immunol*. 2018;3(24):eaat0687. doi:10.1126/sciimmunol.aat0687
26. Claireaux M, Robinot R, Kervevan J, et al. Low CCR5 expression protects HIV-specific CD4+ T cells of elite controllers from viral entry. *Nat Commun*. 2022;13(1):521. doi:10.1038/s41467-022-28130-0
27. Etemad B, Sun X, Li Y, et al. HIV post-treatment controllers have distinct immunological and virological features. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023;120(11):e2218960120. doi:10.1073/pnas.2218960120
28. Real LM, Sáez ME, Carma-Gómez A, et al. A metagenome-wide association study of HIV disease progression in HIV controllers. *iScience*. 2023;26(7):107214. doi:10.1016/j.isci.2023.107214
29. Kennedy BD, Blazkova J, Justement JS, et al. Comprehensive analysis of HIV reservoirs in elite controllers. *J Clin Invest*. 2023;133(3):e165446. doi:10.1172/JCI165446
30. Shi Y, Su J, Chen R, et al. The role of innate immunity in natural elite controllers of HIV-1 infection. *Front Immunol*. 2022;13:780922. doi:10.3389/fimmu.2022.780922

## Inmunología murina

Desde la aparición de las cepas endogámicas de ratón en los años 40 y el desarrollo de los transgénicos en los 80, se han usado ratones en cantidades alarmantes para la investigación en inmunología. Más allá de las preocupaciones éticas que suscitan dichas cantidades, la mayoría de los hallazgos generados en estos experimentos no se traslada a los humanos y no es replicable.<sup>1,2</sup>

Las diferencias fisiológicas y celulares clave entre los tejidos humanos y los de los ratones revelan la inadecuación de estos últimos como sustitutos experimentales humanos y deberían descalificar su uso en experimentos.<sup>3,4</sup> Por ejemplo, los ratones tienen células T epidérmicas dendríticas únicas con funciones sensoriales inexistentes en humanos.<sup>5</sup> Además, la composición de las células inmunitarias en la sangre humana (55-70% de neutrófilos y 20-40% de linfocitos)<sup>6</sup> es diferente a la de los ratones usados en experimentos (20-30% de neutrófilos y 70-80% de linfocitos),<sup>7</sup> lo que afecta los mecanismos de defensa inmunitaria propios de cada especie.<sup>8,9</sup> Estas diferencias tienen sentido dado que los humanos tenemos una esperanza de vida mayor<sup>8</sup> y “no vivimos con la cabeza a media pulgada del suelo”.<sup>10</sup>

Los ratones tienen una composición genética única que contribuye a sus diferencias fenotípicas con los humanos, como la falta de expresión del antígeno leucocitario humano de clase II en los linfocitos T y la distinta activación de estas células durante la

respuesta inmunitaria.<sup>3</sup> Estas especificidades inmunitarias, junto con las modificaciones epigenéticas exclusivas de los ratones, dificultan la traslación de datos y hacen que las comparaciones entre ratones y humanos sean poco realistas y arriesgadas.<sup>9,11</sup> Por ejemplo, una deficiencia de moléculas CD28 causa una disfunción inmunitaria grave en ratones, mientras que los humanos con esta deficiencia permanecen sanos.<sup>12</sup> Debido, en parte, a las diferencias en la expresión de CD28 entre especies, los ensayos clínicos con fialuridina causaron insuficiencia de órganos en humanos que tomaron solo 1/500<sup>avo</sup> de la dosis que se había considerado segura en las pruebas preclínicas en animales.<sup>13</sup>

El sistema inmunitario de los ratones también se ve alterado por las condiciones desoladas y controladas de confinamiento en los laboratorios, a las cuales se adapta su microbioma intestinal,<sup>14</sup> que es distinto al de los ratones silvestres y difiere aún más del de los humanos.<sup>15</sup> Un estudio que analizó más de 1900 genomas de ratón encontró que los humanos y los ratones solo tienen en común el 2% de las especies de bacterias intestinales.<sup>16</sup> El proceso de reproducción utilizado para generar cepas específicas de ratones con variaciones genéticas también hace que sean más susceptibles a los patógenos humanos que los humanos mismos, lo que añade otro punto de discrepancia.<sup>11,17</sup> Los ratones confinados en laboratorios no representan la variabilidad genética que se encuentra entre los humanos o entre los individuos de su propia especie en condiciones silvestres.<sup>17,18</sup> A pesar de estas numerosas y evidentes desventajas, los ratones siguen siendo usados para la investigación en inmunología.

Los métodos basados en la biología humana para la investigación en esta área están avanzando a un ritmo lento, pero con resultados prometedores. Las grandes bases de datos y la biología computacional (proteómica, metabolómica y datos clínicos), integradas con novedosos modelos tridimensionales, pueden superar la brecha existente en la ciencia traslacional y aprovechar los enfoques personalizados.<sup>19-22</sup> Se están usando muestras humanas, por ejemplo, de médula ósea,<sup>23</sup> ganglios linfáticos,<sup>24</sup> amígdalas<sup>22</sup> e hígado,<sup>25</sup> para generar organoides derivados de pacientes que permitan explorar los mecanismos del sistema inmunitario y evaluar hipótesis en diferentes contextos.



**Los ratones confinados en laboratorios no representan la variabilidad genética humana ni la de los individuos de su propia especie en condiciones silvestres.**

De acuerdo con un análisis de los modelos inmunocompetentes de enfermedades cutáneas humanas, el fracaso de los experimentos en animales para traducirse en tratamientos eficaces para enfermedades como la fibrosis, la psoriasis, el cáncer, la alergia de contacto y las enfermedades autoinmunes se debe, en parte, a la naturaleza inmunitaria de estas afecciones. Los autores de este análisis afirman que los cocultivos, los sistemas de organotipos tridimensionales y la tecnología de órganos en chip “permitirán crear modelos humanos complejos y bien controlados que proporcionarán datos minuciosos y confiables y constituirán una solución adecuada para el proceso de desarrollo de medicamentos”.<sup>26</sup>

## Referencias

- Cait J, Cait A, Scott RW, Winder CB, Mason GJ. Conventional laboratory housing increases morbidity and mortality in research rodents: results of a meta-analysis. *BMC Biol.* 2022;20(1):1-22. doi:10.1186/S12915-021-01184-0/TABLES/2
- Maulana TI, Kromidas E, Wallstabe L, et al. Immunocompetent cancer-on-chip models to assess immunology therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021;173:281-305. doi:10.1016/j.addr.2021.03.015
- Mestas J, Hughes CCW. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J Immunol.* 2004;172(5):2731-2738. doi:10.4049/jimmunol.172.5.2731
- Zschaler J, Schlorke D, Arnold J. Differences in innate immune response between man and mouse. *Crit Rev Immunol.* 2014;34(5):433-454.
- Johnson MD, Witherden DA, Havran WL. The role of tissue-resident T cells in stress surveillance and tissue maintenance. *Cells.* 2020;9(3):686. doi:10.3390/cells9030686
- Leukemia & Lymphoma Society. Understanding blood counts. LLS.org. Accessed October 3, 2024. https://www.lls.org/treatment/lab-and-imaging-tests/understanding-blood-counts
- Provencher Bolliger A, Everds N, Zimmerman K, Moore D, Smith S, Barnhart K. Hematology of laboratory animals. In: *Schalm's Veterinary Hematology*. Wiley-Blackwell; 2010:852-887.
- Medetgul-Ernar K, Davis MM. Standing on the shoulders of mice. *Immunity.* 2022;55(8):1343-1353. doi:10.1016/j.immuni.2022.07.008
- Bjornson-Hooper ZB, Fragiadakis GK, Spitzer MH, et al. A comprehensive atlas of immunological differences between humans, mice, and non-human primates. *Front Immunol.* 2022;13. doi:10.3389/fimmu.2022.867015
- Leist M, Hartung T. Inflammatory findings on species extrapolations: humans are definitely no 70-kg mice. *Arch Toxicol.* 2013;87(4):563-567. doi:10.1007/s00204-013-1038-0
- Gros P, Casanova JL. Reconciling mouse and human immunology at the altar of genetics. *Ann Rev Immunol.* 2023;41:39-71. doi:10.1146/annurev-immunol-101721-065201
- Béziat V, Rapaport F, Hu J, et al. Humans with inherited T cell CD28 deficiency are susceptible to skin papillomaviruses but are otherwise healthy. *Cell.* 2021;184(14):3812-3828.e30. doi:10.1016/j.cell.2021.06.004
- Eastwood D, Findlay L, Poole S, et al. Monoclonal antibody TGN1412 trial failure explained by species differences in CD28 expression on CD4+ effector memory T-cells. *Br J Pharmacol.* 2010;161(3):512-526. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.00922.x
- Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes.* 2012;3(1):4-14. doi:10.4161/gmic.19320
- Nguyen TLA, Vieira-Silva S, Liston A, Raes J. How informative is the mouse for human gut microbiota research? *Dis Model Mech.* 2015;8(1):1-16. doi:10.1242/dmm.017400
- Beresford-Jones BS, Forster SC, Stores MD, et al. The Mouse Gastrointestinal Bacteria Catalogue enables translation between the mouse and human gut microbiotas via functional mapping. *Cell Host Microbe.* 2022;30(1):124-138.e8. doi:10.1016/j.chom.2021.12.003
- Pulendran B, Davis MM. The science and medicine of human immunology. *Science.* 2020;369(6511):eaay4014. doi:10.1126/science.aay4014
- Martin MD, Sompallae R, Winborn CS, Harty JT, Bodovinar VP. Diverse CD8 T cell responses to viral infection revealed by the collaborative cross. *Cell Rep.* 2020;31(2). doi:10.1016/j.celrep.2020.03.072
- Ehling P, Meuth P, Eichinger P, et al. Human T cells in silico: modelling their electrophysiological behaviour in health and disease. *J Theor Biol.* 2016;404:236-250. doi:10.1016/j.jtbi.2016.06.001
- Cappuccio A, Tieri P, Castiglione F. Multiscale modelling in immunology: a review. *Brief Bioinform.* 2016;17(3):408-418. doi:10.1093/bib/bbv012
- Day JD, Metes DM, Vodovotz Y. Mathematical modeling of early cellular innate and adaptive immune responses to ischemia/reperfusion injury and solid organ allotransplantation. *Front Immunol.* 2015;6. doi:10.3389/fimmu.2015.00484
- Wagar LE, Salahudeen A, Constantz CM, et al. Modeling human adaptive immune responses with tonsil organoids. *Nat Med.* 2021;27(1):125-135. doi:10.1038/s41591-020-01145-0
- Halliley JL, Tipton CM, Liesveld J, et al. Long-lived plasma cells are contained within the CD19-CD38hiCD138- subset in human bone marrow. *Immunity.* 2015;43(1):132-145. doi:10.1016/j.immuni.2015.06.016
- Shou Y, Johnson SC, Quek YJ, Li X, Tay A. Integrative lymph node-mimicking models created with biomaterials and computational tools to study the immune system. *Mater Today Bio.* 2022;14:100269. doi:10.1016/j.mtbio.2022.100269



© iStock.com/dillo

- Gill US, Pallett LJ, Thomas N, et al. Fine needle aspirates comprehensively sample intrahepatic immunity. *Gut.* 2019;68(8):1493-1503. doi:10.1136/gutjnl-2018-317071
- Bergers LJC, Reijnders CMA, van den Broek LJ, et al. Immune-competent human skin disease models. *Drug Discov Today.* 2016;21(9):1479-1488. doi:10.1016/j.drudis.2016.05.008

## Septicemia

La septicemia es una enfermedad potencialmente mortal causada por la respuesta del organismo a una infección. Los datos de incidencia mundial más recientes muestran que la septicemia afectó aproximadamente a 48,9 millones de personas en todo el mundo y provocó la muerte de 11 millones de ellas en 2017.<sup>1</sup> Es una de las principales causas de muerte en los hospitales estadounidenses y es una de las afecciones más costosas de tratar.<sup>2,3</sup> En América Latina, la septicemia es una de las principales causas prevenibles de muerte.<sup>3,4</sup>

Los ratones son los animales más usados en la investigación de la septicemia, no porque sean buenos modelos de esta enfermedad en los humanos, sino porque abundan, son baratos, pequeños y dóciles.<sup>4</sup> La dificultad para extrapolar de forma confiable los resultados de los ratones a los humanos es considerada una de las principales causas del fracaso de prácticamente todos los ensayos de tratamientos contra la septicemia en humanos.

En 2013, la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* publicó un importante estudio que tomó 10 años en desarrollarse y contó con la colaboración de 39 investigadores de varias instituciones, incluidas la Universidad de Stanford y la Escuela de Medicina de Harvard. El estudio comparó los datos de cientos de pacientes humanos con los resultados de experimentos en animales y demostró que las respuestas genéticas de humanos y ratones a enfermedades inflamatorias graves como la septicemia, las quemaduras y los traumatismos son diferentes.<sup>5</sup>

En un artículo sobre estos resultados, Francis Collins, exdirector de los NIH, lamentó el tiempo y los recursos dedicados al desarrollo de 150 fármacos que trataron con éxito la septicemia en ratones, pero fracasaron en los ensayos clínicos en humanos, y calificó este desastre como “una pérdida desgarradora de décadas de investigación y miles de millones de dólares”.<sup>6</sup> El artículo señala que, en los humanos, muchos de los mismos genes participan en el proceso de recuperación ante la septicemia, las quemaduras y

los traumatismos, pero que era “casi al azar” qué genes murinos podrían coincidir con estos perfiles. Collins lo explica así:

Sin embargo, parece que los ratones usan diferentes conjuntos de genes para enfrentar los traumatismos, las quemaduras y las toxinas bacterianas. Cuando los autores compararon la actividad de los genes humanos relacionados con la septicemia, los traumatismos y las quemaduras con la de los genes equivalentes en ratones, se observó muy poca coincidencia. No es de extrañar que los medicamentos diseñados para los ratones fracasaran en humanos: en efecto, ¡trataban enfermedades diferentes!<sup>6</sup>

Incluso antes de este emblemático estudio, las críticas a los modelos murinos se habían documentado en más de 20 artículos científicos. Los ratones usados en los experimentos de septicemia son jóvenes, endogámicos, de la misma edad y peso y viven en entornos sin gérmenes. Por el contrario, son principalmente los lactantes y ancianos, que viven en una variedad de entornos no esterilizados e impredecibles, quienes padecen septicemia.<sup>7,8</sup> Cuando los experimentadores inducen la enfermedad en ratones, la aparición de los síntomas se produce en cuestión de horas o días, mientras que en los seres humanos los síntomas aparecen en cuestión de días o semanas. A los ratones no suele proporcionárseles el tratamiento de apoyo que reciben los pacientes humanos, como fluidos, vasopresores y respiradores.<sup>9</sup> A diferencia de los humanos, a los ratones rara vez se les administran analgésicos,<sup>10</sup> otra diferencia que socava datos de valor ya cuestionable, pues el dolor afecta otros procesos fisiológicos.

El método de referencia usado por los experimentadores para inducir la septicemia en ratones es abrir el abdomen del animal, perforar sus intestinos con una aguja y cerrar la incisión, lo que se conoce como ligadura cecal y punción. Sin embargo, las respuestas de los ratones a este procedimiento varían en función de la edad, el sexo, la cepa, el tamaño de la incisión y la aguja, así como del lugar donde se realiza el experimento, lo que hace que los resultados sean incomparables entre laboratorios.<sup>11,12</sup> Además, el procedimiento causa un absceso, cuyos efectos pueden enmascarar la septicemia o ser enmascarados por los efectos de esta enfermedad.<sup>9</sup> Esto significa que una intervención que parece tratar la septicemia puede ser beneficiosa solo por sus efectos sobre el absceso.

También se han usado ratas, perros, gatos, cerdos, ovejas, conejos, caballos y primates no humanos, incluidos babuinos y macacos, en los experimentos de septicemia. Ninguna de estas especies logra replicar todas las características fisiológicas de la enfermedad en humanos. Las respuestas de la presión arterial pulmonar en cerdos y ovejas difieren de las de los humanos, por lo que este aspecto de la septicemia no puede compararse entre estas especies.<sup>13</sup> Además, los babuinos y los ratones son menos sensibles a una bacteria usada habitualmente para inducir la septicemia en entornos experimentales.<sup>14</sup> Un estudio reciente encontró que los macacos

Rhesus y los babuinos difieren notablemente de los humanos en su respuesta inmunitaria innata a los patógenos.<sup>15</sup>

Un informe publicado en 2019 por el grupo de trabajo sobre septicemia del Consejo Consultivo Nacional de Ciencias Médicas Generales de EE. UU. (NAGMSC) señala que “[a] pesar de décadas de estudio intensivo de los mecanismos subyacentes de esta afección, no ha surgido un fármaco nuevo ni una tecnología de diagnóstico significativamente nueva. Docenas de ensayos prospectivos de agentes o estrategias dirigidos a la base inflamatoria de la septicemia han fracasado”.<sup>16</sup> El informe recomendó que el Instituto Nacional de Ciencias Médicas Generales de EE. UU. (NIGMS), que forma parte de los NIH, “reequilibrara” su portafolio de financiación para la investigación en septicemia para “incluir un enfoque más clínico”.<sup>16</sup> Tras el informe, el NIGMS indicó su intención de apoyar investigaciones sobre sepsis que “usen enfoques nuevos y emergentes, como la informática clínica, los análisis computarizados, el modelado predictivo en pacientes y nuevas aplicaciones de técnicas bioanalíticas de alta resolución y gran capacidad a materiales obtenidos de pacientes sépticos”, y señaló que el apoyo a “estudios que usen modelos de roedores para la septicemia” es una “prioridad baja”.<sup>17</sup> En la Conferencia Anual de la Sociedad de Shock de 2024, el NIGMS anunció que “no estaba dispuesto” a financiar proyectos en los que se propusiera el uso de modelos murinos de la septicemia humana y recomendó que, en adelante, se empleen métodos de investigación sin animales.<sup>18</sup>

En 2015, un grupo de trabajo de expertos formado por veterinarios, zootécnicos y científicos publicó un informe sobre la aplicación de las 3R (reemplazo, reducción y refinamiento del uso de animales) en la investigación sobre septicemia.<sup>19</sup> El grupo identificó varios métodos que podrían usarse en lugar de los experimentos en animales, como los modelos de cultivo celular *in vitro* para estudiar los mecanismos de la septicemia, la biología de sistemas y computacional para exponer los procesos inflamatorios que ocurren en esta enfermedad, los modelos de cultivo celular tridimensionales para explorar la progresión de la enfermedad humana y los mecanismos infecciosos, los modelos humanos sintéticos para recrear tipos de células y tejidos relacionados con la septicemia, y la información genómica humana para comprender cómo esta condición afecta a los individuos de manera diferente y qué grupos pueden tener mayor riesgo. De acuerdo con los autores del reporte, la información genómica “complementará o incluso sustituirá la necesidad de modelos murinos en el descubrimiento de enfermedades y el desarrollo de medicamentos”.<sup>19</sup>

Los siguientes son ejemplos de avances recientes en la investigación en septicemia relevante para los humanos:

- Científicos japoneses usaron organoides hepáticos derivados de hiPSC para modelar los eventos patológicos de la disfunción hepática asociada a la septicemia y la recuperación tras la infección.<sup>20</sup>

- Un equipo de ingenieros, médicos e investigadores de la Universidad de Temple identificó una asociación entre los tipos de neutrófilos y la gravedad de la septicemia en un modelo de pulmón humano en chip, que puede utilizarse para determinar la intervención terapéutica adecuada en función de la gravedad de la enfermedad.<sup>21</sup>
- Investigadores y médicos en China crearon un dispositivo microfluídico de seis unidades que analiza exhaustivamente la actividad de los glóbulos blancos de pacientes con septicemia para determinar la progresión y la gravedad de la enfermedad.<sup>22</sup>
- Científicos y médicos del Hospital General de Massachusetts diseñaron un dispositivo microfluídico para detectar con precisión, a través de una gota de sangre, un biomarcador de la fisiopatología de la septicemia y mejorar el seguimiento de la enfermedad.<sup>23</sup>
- Dado que la detección precoz de la septicemia es probablemente el factor más importante para reducir la mortalidad por esta afección,<sup>24</sup> investigadores de todo el mundo están explorando varias herramientas de inteligencia artificial y aprendizaje automático para apoyar la predicción y el diagnóstico tempranos de esta enfermedad.<sup>25-33</sup>

## Referencias

- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020;395(10219):200–211. doi:10.1016/S0140-6736(19)32989-7
- Liu V, Escobar GJ, Greene JD, et al. Hospital deaths in patients with sepsis from 2 independent cohorts. *JAMA*. 2014;312(1):90–92. doi:10.1001/jama.2014.5804
- Torio CM, Moore BJ. National inpatient hospital costs: the most expensive conditions by payer, 2013. In: *Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs*. Agency for Healthcare Research and Quality (U.S.); 2006. Accessed December 5, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK368492/>
- Verma S. Laboratory animal models to mimic human sepsis: a review. *Res Rev J Zool Sci*. May 28, 2016. Accessed December 5, 2024. <https://www.semanticscholar.org/paper/Laboratory-Animal-Models-to-Mimic-Human-Sepsis/3A-A-Verma/8d9333dca987c3db1a9e29c960416b07a47b7105a>
- Seok J, Warren HS, Cuenca AG, et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(9):3507–3512. doi:10.1073/pnas.1222878110
- Collins F. Of mice, men, and medicine. *NIH*. February 19, 2013. Accessed October 31, 2022. <https://us.pagefreeser.com/en-US/wa/browse/c530da90-f454-461b-9a86-959c53ac616c?url=https://2f2f2fdirectorsblog.nih.gov/2f2013/2f2022/2f19/2f2f-mice-men-and-medicine/2f2f?timestamp=2025-05-27T10:13:51Z>
- Esmon CT. Why do animal models (sometimes) fail to mimic human sepsis? *Crit Care Med*. 2004; 32(5 Suppl):S219–222. doi:10.1097/01.ccm.0000127036.27343.48
- Rittirsch D, Hoesel LM, Ward PA. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J Leukoc Biol*. 2007;81(1):137–143. doi:10.1189/jlb.0806542
- Buras JA, Holzmann B, Sirkovsky M. Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(10):854–865. doi:10.1038/nrd1854
- Nemzek JA, Hugunin KMS, Opp MR. Modeling sepsis in the laboratory: merging sound science with animal well-being. *Comp Med*. 2008;58(2):120–128.
- Ruiz S, Vardon-Bouanes F, Merlet-Dupuy V, et al. Sepsis modeling in mice: ligation length is a major severity factor in cecal ligation and puncture. *Intensive Care Med Exp*. 2016;4(1):22. doi:10.1186/s40635-016-0096-z
- Joffre J. Preclinical model in sepsis: should we abandon the CLP? *J Inflamm Res*. 2023;16:1757–1759. doi:10.2147/JIR.S415972
- Redl H, Bahrami S. Large animal models: baboons for trauma, shock, and sepsis studies. *Shock*. 2005;24 Suppl 1:88–93. doi:10.1097/01.shk.0000191339.46777.63
- Fink MP. Animal models of sepsis. *Virulence*. 2014;5(1):143–153. doi:10.4161/viru.26083
- Hawash MBF, Sanz-Remón J, Grenier JC, et al. Primate innate immune responses to bacterial and viral pathogens reveals an evolutionary trade-off between strength and specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(13):e2015855118. doi:10.1073/pnas.2015855118
- National Institute of General Medical Sciences. NAGMSC Working Group on Sepsis. NIH. Accessed May 25, 2023. <https://www.nigms.nih.gov/about/dimo/Documents/nagmsc-working-group-sepsis-report.pdf>
- National Institute of General Medical Sciences. Notice of information: NIGMS priorities for sepsis research. July 29, 2019. Accessed February 9, 2022. <https://grants.nih.gov/grants/guide/notice-files/NOTGM-19-054.html>
- HEA. A major health agency slashes funding for sepsis experiments on animals after push from PETA. *PETA*. June 18, 2024. Accessed December 5, 2024. <https://www.peta.org/blog/major-health-agency-slashes-funding-for-sepsis-experiments-on-animals/>
- Lilley E, Armstrong R, Clark N, et al. Refinement of animal models of sepsis and septic shock. *Shock*. 2015;43(4):304–316. doi:10.1097/SHK.0000000000000318
- Li Y, Nie Y, Yang X, et al. Integration of Kupffer cells into human iPSC-derived liver organoids for modeling liver dysfunction in sepsis. *Cell Rep*. 2024;43(3):113918. doi:10.1016/j.celrep.2024.113918
- Yang Q, Langston JC, Prosniak R, et al. Distinct functional neutrophil phenotypes in sepsis patients correlate with disease severity. *Front Immunol*. 2024;15:1341752. doi:10.3389/fimmu.2024.1341752
- Yang X, Pu X, Xu Y, et al. A novel prognosis evaluation indicator of patients with sepsis created by integrating six microfluidic-based neutrophil chemotactic migration parameters. *Talanta*. 2024;281:126801. doi:10.1016/j.talanta.2024.126801
- Sakuma M, Wang X, Ellett F, et al. Microfluidic capture of chromatin features measures neutrophil extracellular traps (NETs) released in a drop of human blood. *Lab Chip*. 2022;22(5):936–944. doi:10.1039/d1lc01123e
- Marik PE, Farkas JD. The changing paradigm of sepsis: early diagnosis, early antibiotics, early pressors, and early adjuvant treatment. *Crit Care Med*. 2018;46(10):1690–1692. doi:10.1097/CCM.0000000000003310
- Goh KH, Wang L, Yeow AYK, et al. Artificial intelligence in sepsis early prediction and diagnosis using unstructured data in healthcare. *Nat Commun*. 2021;12(1):711. doi:10.1038/s41467-021-20910-4
- Rosnati M, Fortuin V. MGP-AttTCN: An interpretable machine learning model for the prediction of sepsis. *PLoS One*. 2021;16(5):e0251248. doi:10.1371/journal.pone.0251248
- Honoré A, Forsberg D, Adolphson K, Chatterjee S, Jost K, Herlenius E. Vital sign-based detection of sepsis in neonates using machine learning. *Acta Paediatr Oslo Nor*. 2023;112(4):686–696. doi:10.1111/apa.16660
- Sun B, Lei M, Wang L, et al. Prediction of sepsis among patients with major trauma using artificial intelligence: a multicenter validated cohort study. *Int J Surg Lond Engl*. Published online June 26, 2024. doi:10.1097/JIS9.0000000000001866
- Gao J, Lu Y, Ashrafi N, Domingo I, Alaei K, Pishgar M. Prediction of sepsis mortality in ICU patients using machine learning methods. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2024;24(1):228. doi:10.1186/s12911-024-02630-z
- Hang Y, Qu H, Yang J, et al. Exploration of programmed cell death-associated characteristics and immune infiltration in neonatal sepsis: new insights from bioinformatics analysis and machine learning. *BMC Pediatr*. 2024;24(1):67. doi:10.1186/s12887-024-04555-y
- Boussina A, Shashikumar SP, Malhotra A, et al. Impact of a deep learning sepsis prediction model on quality of care and survival. *NPJ Digit Med*. 2024;7(1):14. doi:10.1038/s41746-023-00986-6
- Giacobbe DR, Signori A, Del Puente F, et al. Early detection of sepsis with machine learning techniques: a brief clinical perspective. *Front Med*. 2021;8:617486. doi:10.3389/fmed.2021.617486
- Steinbach D, Ahrens PC, Schmidt M, et al. Applying machine learning to blood count data predicts sepsis with ICU admission. *Clin Chem*. 2024;70(3):506–515. doi:10.1093/clinchem/hvae00
- Azevedo LCP, Cavalcanti AB, Lisboa T, et al. Sepsis is an important healthcare burden in Latin America: A call to action! A sepsis é um grave problema de saúde na América Latina: uma chamada à ação! *Rev Bras Ter Intensiva*. 2018;30(4):402–404. doi:10.5935/0103-507X.20180061



## Trastornos gastrointestinales

Solo en EE. UU., los trastornos gastrointestinales (GI) resultaron en 14,5 millones de visitas a salas de emergencia en 2021 y causaron un gasto de casi 112 mil millones de dólares en servicios médicos.<sup>1</sup> La carga de estas enfermedades es asombrosa, ya que contribuyen significativamente a la morbilidad, la mortalidad y los costos de atención médica, y se espera que la prevalencia aumente.<sup>2</sup> Debido a esto, se han dedicado enormes esfuerzos al desarrollo de medicamentos para los trastornos GI, pero el éxito ha sido escaso para muchas afecciones.<sup>3</sup> Existen tratamientos para las enfermedades GI, pero estos a menudo tienen importantes desventajas, en parte porque mucho de lo que se conoce sobre los mecanismos de estas enfermedades se ha derivado de modelos animales.

Las diferencias cruciales de los animales no humanos los hacen modelos inadecuados para estudiar las enfermedades GI humanas. Las dos especies más usadas en estos experimentos son las ratas y los cerdos.<sup>4</sup> Ambas tienen tractos gastrointestinales anatómicamente distintos al de los humanos. Por ejemplo, el yeyuno constituye el 90% del intestino delgado de la rata, pero solo el 38% del intestino delgado humano.<sup>5</sup> Las ratas carecen de colon sigmoide, vesícula biliar y conductos císticos, mientras que el colon de los cerdos es más grande que el de los humanos.<sup>5-7</sup> Además de las diferencias anatómicas, existen disparidades conductuales: las ratas suelen consumir porciones pequeñas

con frecuencia, mientras que los humanos comen porciones más abundantes con menos frecuencia.<sup>8</sup> Los cerdos, por su parte, consumen más comida en relación con su peso corporal que los humanos.<sup>4</sup>

Las condiciones de laboratorio pueden influir aún más en el estudio de las enfermedades GI. Un estudio publicado en 2024 encontró que la temperatura a la que se confinan los ratones en los laboratorios puede afectar significativamente su motilidad intestinal y microbiota.<sup>9</sup> La procedencia de los animales también puede causar variaciones en los microbiomas intestinales debido a distintos factores ambientales.<sup>10</sup> Las diferencias en los microbiomas propios de cada especie también influyen: los cerdos tienen poco *Bifidobacterium*, una especie importante en el intestino humano.<sup>4</sup> Dado el papel de la microbiota intestinal en la respuesta inmunitaria, estas diferencias pueden afectar significativamente los resultados de los experimentos.<sup>11</sup>

Los modelos animales de afecciones GI humanas son criticados por su escaso valor predictivo sobre los resultados de la enfermedad y la eficacia clínica en humanos, especialmente en el caso de afecciones como el síndrome del intestino irritable (SII) y las enfermedades del intestino irritable (EII), cuya patogénesis sigue sin comprenderse del todo.<sup>12</sup>

El SII es un trastorno crónico que afecta el tracto gastrointestinal inferior. La prevalencia de esta enfermedad en América Latina es del 15,4% y sus síntomas incluyen dolor y distensión abdominal, evacuación incompleta y estreñimiento, entre otros.<sup>13</sup> Aunque la causa exacta del SII sigue sin estar clara, se cree que implica una combinación de factores físicos y psicológicos, especialmente estrés y ansiedad,<sup>13</sup> que no pueden reproducirse fielmente en modelos no humanos.

El desarrollo de modelos animales del SII suele implicar el sometimiento de los animales a estrés durante su desarrollo temprano.<sup>14</sup> Estos modelos tienen limitaciones significativas, como la incapacidad de replicar el estreñimiento o las respuestas intestinales mixtas de los pacientes humanos. Además, las personas con SII suelen presentar trastornos superpuestos, como síndrome de dolor vesical, dolor pélvico crónico, ansiedad y depresión, ninguno de los cuales se modela en experimentos en animales. Los cambios de comportamiento, como la ansiedad o la depresión, son difíciles, si no imposibles, de medir en animales (ver el apéndice sobre trastornos neuropsiquiátricos y neurodivergencia, pág. 42). En la mayoría de los experimentos se usan animales machos, a pesar de que el SII se diagnostica con más frecuencia en las mujeres. Además, el dolor abdominal, principal síntoma del SII, no puede evaluarse con precisión en animales, ya que no existe un fenotipo específico del dolor visceral que padecen los humanos. Estas deficiencias hacen que los experimentos del SII en animales sean inadecuados para comprender la fisiopatología de esta condición y desarrollar tratamientos eficaces.<sup>15</sup>

Las EII, que incluyen la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, son afecciones inflamatorias crónicas que suelen afectar los intestinos grueso y delgado. En América Latina, la incidencia y la prevalencia de las EII han venido aumentando de manera constante.<sup>16</sup> En EE. UU., las EII afectan a entre dos y tres millones de personas,<sup>17</sup> que sufren hemorragias rectales, diarrea grave, dolor abdominal, fiebre y pérdida de peso. Se cree que las causas de las EII son una combinación de factores genéticos, inmunitarios, microbianos y ambientales, aunque los mecanismos precisos no se conocen del todo.<sup>18</sup>

En la investigación de las EII, se induce la colitis mediante la administración de sustancias irritantes o se usan ratones modificados genéticamente. Sin embargo, la reproducibilidad sigue siendo un problema importante. Diversas cepas de ratones muestran distintas susceptibilidades a la colitis inducida con sustancias químicas, y las diferencias en el microbioma entre cepas o proveedores también pueden influir en el desarrollo de la enfermedad en ratones modificados genéticamente. Dado que tanto los factores genéticos como los ambientales contribuyen a las EII, un modelo animal que carezca de estas características humanas específicas no puede reproducir eficazmente estas enfermedades. Por ejemplo, los ratones modificados genéticamente suelen crearse mediante la mutación de un único gen, pero las EII humanas son poligénicas.<sup>19</sup> Además, la colitis inducida químicamente en ratones suele causar lesiones agudas en unos pocos días, mientras que las EII humanas se desarrollan durante años.<sup>20</sup>

Un ejemplo clave de las limitaciones de los modelos animales es la inhibición de la IL-17, que trata eficazmente la colitis en ratones, pero ha fracasado en pacientes con enfermedad de Crohn, incluso empeorando la afección en algunas ocasiones.<sup>21,22</sup> Un análisis publicado en 2019 concluyó que “aunque existen muchos modelos *in vivo* de EII, ninguno predice adecuadamente la respuesta a los tratamientos”.<sup>20</sup> El fracaso de la inhibición de la IL-17 en los ensayos clínicos ilustra cómo un tratamiento que funciona en modelos animales puede fallar en humanos. Por el contrario, algunos tratamientos prometedores para las EII en pacientes humanos han fracasado en modelos de ratón.<sup>23,24</sup>

Dadas estas limitaciones, está claro que ningún modelo animal puede reproducir con exactitud los trastornos GI humanos. Estas afecciones están atravesadas por una compleja interacción de factores ambientales, genéticos y microbianos que no pueden captarse por completo en modelos animales inducidos artificialmente. Por lo tanto, es crucial dar prioridad a los métodos de investigación relevantes para los humanos, como los organoides, los dispositivos microfluídicos y los órganos en chip. Los siguientes son algunos de los avances recientes en esta área:

- Ingenieros biológicos del Instituto de Tecnología de Massachusetts (MIT) desarrollaron un modelo humano multiorgánico de colitis ulcerosa para estudiar su impacto en el eje intestino-hígado-sistema inmunitario.<sup>25</sup>

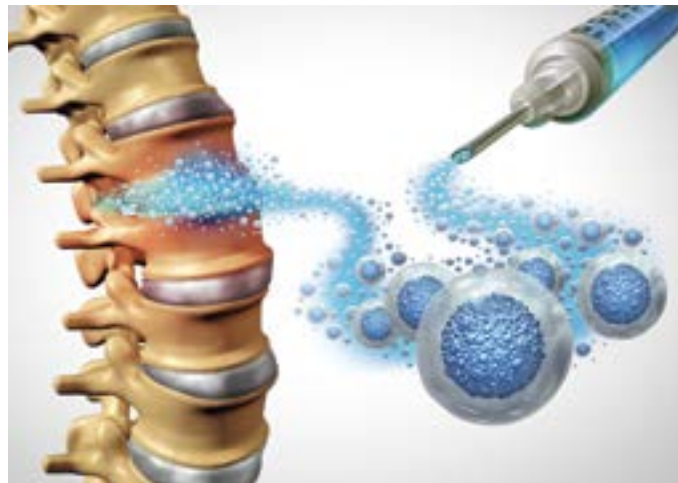
- Científicos en Londres usaron un enfoque multiómico para identificar una nueva vía biológica relacionada con las EII y hallaron que el gen ETS2 está vinculado a un mayor riesgo de EII.<sup>26</sup>
- Un grupo de investigadores y médicos de Misuri y Carolina del Norte creó un intestino neonatal en chip para estudiar la enterocolitis necrosante, una enfermedad gastrointestinal mortal que afecta a los bebés prematuros. El grupo demostró con éxito que este modelo puede recapitular la patología de la enfermedad, y planea usarlo para probar posibles tratamientos.<sup>27</sup>
- Médicos y científicos de Boston obtuvieron biopsias y muestras de sangre y heces de pacientes del Hospital de Niños de Cincinnati, el Hospital General de Massachusetts, el Hospital Universitario Emory y el Centro Médico Cedars-Sinai para crear un perfil molecular longitudinal de sus microbiomas. A través de un enfoque multiómico, identificaron factores microbianos, bioquímicos y del huésped involucrados en la desregulación inducida por la EII.<sup>28</sup>
- Investigadores y médicos en Houston usaron organoides intestinales derivados de pacientes para explorar la relación entre la disfunción de los telómeros y las EII, lo que sugiere que abordar la disfunción telomérica podría ser una estrategia terapéutica.<sup>29</sup>

Las diferencias anatómicas y fisiológicas entre los sistemas gastrointestinales de los humanos y los no humanos, sumadas a la inducción artificial de enfermedades GI en animales, dificultan la obtención de resultados confiables en los estudios. Asimismo, muchos de estos métodos de inducción implican procedimientos invasivos y dolorosos que causan angustia en los animales antes de ser asesinados.<sup>14,30-34</sup> Dado que los modelos animales de enfermedades GI no reflejan de forma confiable la patología humana y contribuyen al sufrimiento animal, resulta imprescindible hacer la transición hacia métodos sin animales que usan tejidos humanos o pacientes voluntarios.

## Referencias

1. Peery AF, Murphy CC, Anderson C, et al. Burden and cost of gastrointestinal, liver, and pancreatic diseases in the United States: update 2024. *Gastroenterology*. 2025;168(5):1000-1024. doi:10.1053/j.gastro.2024.12.029
2. Almaro CV, Ballal ML, Chey WD, Nordstrom C, Khanna D, Spiegel BMR. Burden of gastrointestinal symptoms in the United States: results of a nationally representative survey of over 71,000 Americans. *Am J Gastroenterol*. 2018;113(11):1701-1710. doi:10.1038/s41395-018-0256-8
3. Mayer EA, Bradesi S, Chang L, Spiegel BMR, Bueller JA, Naliboff BD. Functional GI disorders: from animal models to drug development. *Gut*. 2008;57(3):384-404. doi:10.1136/gut.2006.101675
4. Sciascia Q, Das G, Metges CC. REVIEW: The pig as a model for humans: effects of nutritional factors on intestinal function and health. *J Anim Sci*. 2016;94(suppl\_3):441-452. doi:10.2527/jas.2015-9788
5. DeSesso JM, Jacobson CF. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food Chem Toxicol*. 2001;39(3):209-228. doi:10.1016/S0278-6915(00)00136-8
6. Higashiyama H, Uemura M, Igarashi H, Kurohmaru M, Kanai Azuma M, Kanai Y. Anatomy and development of the extrahepatic biliary system in mouse and rat: a perspective on the evolutionary loss of the gallbladder. *J Anat*. 2018;232(1):134-145. doi:10.1111/joa.12707
7. Gonzalez LM, Moeser AJ, Blikslager AT. Porcine models of digestive disease: the future of large animal translational research. *Transl Res*. 2015;166(1):12-27. doi:10.1016/j.trsl.2015.01.004
8. Clifton P. Meal patterning in rodents: psychopharmacological and neuroanatomical studies. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000;24(2):213-222. doi:10.1016/S0149-7634(99)00074-3
9. Han A, Hudson-Poz C, Robinson BG, et al. Temperature-dependent differences in mouse gut motility are mediated by stress. *Lab Anim*. 2024;53(6):148-159. doi:10.1038/s41684-024-01376-5

10. Harley ITW, Giles DA, Pfluger PT, et al. Differential colonization with segmented filamentous bacteria and *Lactobacillus murinus* do not drive divergent development of diet-induced obesity in C57BL/6 mice. *Mol Metab*. 2013;2(3):171-183. doi:10.1016/j.molmet.2013.04.004
11. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014;157(1):121-141. doi:10.1016/j.cell.2014.03.011
12. Kriaa A, Moriaule V, De Rudder C, et al. From animal models to gut-on-chip: the challenging journey to capture inter-individual variability in chronic digestive disorders. *Gut Microbes*. 2024;16(1):2333434. doi:10.1080/19490976.2024.2333434
13. Ramirez Aranda JM, Martínez Gutiérrez CM, Fuentes Ramírez MM, et al. Agregación familiar en el síndrome de colon irritable en pacientes mexicanos. Un estudio de casos y controles. *Aten Primaria*. 2024;56(2):102794. doi:10.1016/j.aprim.2023.102794
14. Accarie A, Vanuytsel T. Animal models for functional gastrointestinal disorders. *Front Psychiatry*. 2020;11:509681. doi:10.3389/fpsyt.2020.509681
15. Johnson AC, Farmer AD, Ness TJ, Greenwood Van Meerveld B. Critical evaluation of animal models of visceral pain for therapeutics development: a focus on irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil*. 2020;32(4):e13776. doi:10.1111/nmo.13776
16. Kotze PG, Underwood FE, Damião AOMC, et al. Progression of inflammatory bowel diseases throughout Latin America and the Caribbean: A systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(2):304-312. doi:10.1016/j.cgh.2019.06.030
17. Lewis JD, Parlett LE, Jonsson Funk ML, et al. Incidence, prevalence, and racial and ethnic distribution of inflammatory bowel disease in the United States. *Gastroenterology*. 2023;165(5):1197-1205.e2. doi:10.1053/j.gastro.2023.07.003
18. Flynn S, Eisenstein S. Inflammatory bowel disease presentation and diagnosis. *Surg Clin North Am*. 2019;93(6):1051-1062. doi:10.1016/j.suc.2019.08.001
19. Baydi Z, Limami Y, Khalki L, et al. An update of research animal models of inflammatory bowel disease. *Chiba T, ed. Sci World J*. 2021;2021:1-12. doi:10.1155/2021/7479540
20. Pizarro TT, Stappenbeck TS, Rieder F, et al. Challenges in IBD research: preclinical human IBD mechanisms. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;25(Suppl 2):S5-S12. doi:10.1093/ibd/izz075
21. Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, et al. Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut*. 2012;61(12):1693-1700. doi:10.1136/gutjnl-2011-301668
22. Targan SR, Feagan B, Vermeire S, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 study of Brodalumab in patients with moderate-to-severe Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2016;111(11):1599-1607. doi:10.1038/ajg.2016.298
23. Verstockt B, Salas A, Sands BE, et al. IL-12 and IL-23 pathway inhibition in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2023;20(7):433-446. doi:10.1038/s41575-023-00768-1
24. Lewis JD, Chen EZ, Baldassano RN, et al. Inflammation, antibiotics, and diet as environmental stressors of the gut microbiome in pediatric Crohn's disease. *Cell Host Microbe*. 2015;18(4):489-500. doi:10.1016/j.chom.2015.09.008
25. Trapecar M, Communal C, Velazquez J, et al. Gut-liver physiomics reveal paradoxical modulation of IBD-related inflammation by short-chain fatty acids. *Cell Syst*. 2020;10(3):223-239.e9. doi:10.1016/j.cels.2020.02.008
26. Stankey CT, Bourges C, Haag LM, et al. A disease-associated gene desert directs macrophage inflammation through ETS2. *Nature*. 2024;630(8016):447-456. doi:10.1038/s41586-024-07501-1
27. Lanik WE, Luke CJ, Nolan LS, et al. Microfluidic device facilitates in vitro modeling of human neonatal necrotizing enterocolitis-on-a-chip. *JCI Insight*. 2023;8(8):e146496. doi:10.1172/jci.insight.146496
28. IBDDB Investigators, Lloyd-Price J, Arze C, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature*. 2019;569(7758):655-662. doi:10.1038/s41586-019-1237-9
29. Chakravarti D, Lee R, Multani AS, et al. Telomere dysfunction instigates inflammation in inflammatory bowel disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(29):e2024853118. doi:10.1073/pnas.2024853118
30. Lee A. Animal models of gastroduodenal ulcer disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2000;14(1):75-96. doi:10.1053/bega.2000.0060
31. Kazachkov M, Marcus M, Vaynblat M, Nino G, Pagola M. The effect of surgically created gastroesophageal reflux on intrapleural pressures in dogs. *Transl Res*. 2008;151(6):315-321. doi:10.1016/j.trsl.2008.04.005
32. Hu Y, Xu X, Chen S, et al. Laryngoscopy findings and histological results in a rabbit gastroesophageal reflux model. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2012;269(8):1939-1944. doi:10.1007/s00405-012-1968-9
33. Kanai S, Mukaisho K, Yoshida S, Taniura N, Sugihara H. Host factors influence Barrett's carcinogenesis: findings from a mouse gastroduodenal reflux model. *Esophagus*. 2019;16(3):264-271. doi:10.1007/s10388-019-00660-5
34. He J, Fang Y, Chen X. Surgical models of gastroesophageal reflux with mice. *J Vis Exp JoVE*. 2015;(102):e53012. doi:10.3791/53012



© iStock.com/wildpixel

dificultades para interpretar el resultado funcional en animales y diferencias entre especies y cepas en la fisiopatología de la LME<sup>1</sup>. De acuerdo con una revisión sistemática del uso de modelos animales para estudiar la regeneración nerviosa en estructuras de ingeniería tisular, la mayoría de los “biomateriales usados en modelos animales no han recibido autorización para probarse en ensayos clínicos a pesar del beneficio casi uniforme descrito en los trabajos experimentales”.<sup>2</sup> Los autores de la revisión lamentaron la baja calidad de los experimentos en animales descritos, ya que omitieron información fundamental y necesaria, lo que dificultó la comparación de los datos.

La metilprednisolona, un tratamiento de uso habitual para la LME aguda, ha generado resultados inconsistentes en modelos animales. Una revisión sistemática que examinó 62 estudios de este medicamento en una amplia variedad de especies, desde roedores hasta monos, encontró que el 34% de los estudios reportó resultados beneficiosos, el 58% no encontró ningún efecto y el 8% tuvo resultados mixtos.<sup>3</sup> Los resultados fueron inconsistentes tanto entre especies como dentro de la misma especie e incluso dentro de las mismas cepas. Además, la variabilidad de los resultados se mantuvo incluso cuando se controlaron muchas de las variables del diseño y del procedimiento del estudio. Los autores de la revisión señalaron que no puede desarrollarse ningún modelo animal relevante para los humanos dadas las numerosas diferencias intrínsecas y limitaciones de cada especie/modelo, y concluyeron que el “énfasis de la investigación debe ponerse en el desarrollo y el uso de métodos validados y basados en el ser humano”.<sup>3</sup>

Las ratas son especialmente inadecuadas para la investigación de la reparación o regeneración nerviosa, y su uso implica tres grandes problemas:

- (1) En la actualidad, la mayoría de los datos sobre regeneración nerviosa se produce en ratas, lo que puede sesgar los resultados del tratamiento y llevar a una evaluación inadecuada de los riesgos y beneficios.
- (2) La rata es un modelo particularmente deficiente

## Regeneración nerviosa

Se han desarrollado muchos medicamentos neuroprotectores que tienen éxito en el tratamiento de las lesiones de médula espinal (LME) en modelos animales, pero los ensayos clínicos han sido decepcionantes. La neuróloga Aysha Akhtar identifica tres razones principales de este fracaso: “diferencias en el tipo de lesión entre la LME inducida en laboratorio y la LME clínica,

para la reparación de defectos de brecha críticos en humanos debido tanto a su pequeño tamaño como al perfil neurobiológico regenerativo propio de la especie. (3) La translación de la rata al ser humano ha demostrado no ser confiable para la regeneración nerviosa, al igual que para muchas otras aplicaciones.<sup>4</sup>

Las inconsistencias entre los modelos animales y el contexto clínico son significativas<sup>5</sup> e incluyen lo siguiente:

- (1) animales sanos frente a pacientes enfermos;
- (2) brechas cortas frente a largas (la necesidad clínica de reparaciones de *grandes* brechas, mientras que el 90% de los estudios *in vivo* se realizan en ratas y conejos donde las longitudes de las brechas suelen ser  $\leq 3$  cm); (3) modelos animales que casi siempre emplean autoinjertos *sensitivo-motores mixtos* para reparar defectos mixtos, frente a reparaciones clínicas que casi siempre implican autoinjertos *sensitivos* (normalmente nervio sural) para reparar defectos mixtos; (4) zonas anatómicas protegidas en modelos animales, frente a reparaciones que, a menudo, deben atravesar articulaciones en humanos; y (5) cepas animales y edades altamente homogéneas y endogámicas, frente a poblaciones de pacientes y edades diversas: es bien sabido que los modelos animales no imitan la condición humana en cuanto a la *uniformidad* de los sujetos animales usados.<sup>4</sup>

Para inducir una lesión medular en modelos animales, los experimentadores aplican fuerza física directamente sobre la médula espinal. Existen métodos diferentes, como la contusión, que consiste en desplazar la médula espinal dejándole caer un peso, o la separación por tracción, en la que se aplica fuerza para estirar la médula espinal. Independientemente del método usado, lograr consistencia y reproducibilidad es un reto debido a la imposibilidad de replicar la misma lesión medular cada vez que se realiza el procedimiento. Por ejemplo, en las lesiones inducidas por contusión, la variabilidad puede surgir del rebote de la varilla después de golpear la médula espinal, lo que puede causar múltiples impactos.<sup>6</sup>

Además de la falta de consistencia, muchos de estos modelos no reflejan con exactitud los mecanismos de la LME en humanos. Un modelo de compresión creado con fórceps no reproduce el impacto agudo que se observa en la mayoría de las lesiones medulares humanas, y los dispositivos usados para el modelo de separación por tracción suelen inducir lesiones muy lentamente para emular las lesiones humanas. La LME inducida químicamente se emplea para estudiar las lesiones secundarias asociadas a la LME y suele implicar la inyección o aplicación de un producto químico tóxico en la zona de interés. Sin embargo, uno de los desafíos de este método es lograr la administración precisa de la sustancia química en la región correcta de la columna vertebral.<sup>6</sup>

Los ingenieros biomédicos han observado que los experimentadores “son incapaces de imitar realmente las lesiones neurales humanas en modelos animales debido a las grandes diferencias anatómicas, funcionales, moleculares, inmunitarias y patológicas entre los humanos y los animales estudiados con frecuencia”.<sup>7</sup> Los métodos relevantes para los humanos pueden superar estas limitaciones y deberían ser el foco de la investigación.

Diversos grupos han examinado métodos relevantes para los humanos para estudiar las lesiones y la regeneración nerviosas, como organoides humanos, dispositivos microfluídicos, moldes para andamiajes de tejidos humanos diseñados, bioimpresión y otros usos *in vitro* de células humanas. Los modelos *ex vivo*, como los que usan estructuras de diseño tridimensional, biorreactores, neuroesferas y organoides, permiten realizar estudios más controlados sobre parámetros específicos que los experimentos en animales.<sup>7</sup> La bioimpresión puede usar biotintas que contienen células y materiales humanos para construir modelos de tejidos heterogéneos en un solo paso y con gran consistencia,<sup>8</sup> un aspecto de la investigación sobre la regeneración nerviosa que ha estado especialmente ausente en los modelos animales.<sup>2</sup>

Ingenieros e investigadores del Centro Médico de la Universidad de Pittsburgh y de la Universidad Carnegie Mellon han imitado traumatismos craneoencefálicos (TCE) leves y moderados en organoides cerebrales humanos. Su estudio permitió identificar importantes repercusiones genéticas del TCE en el cerebro que pueden usarse para diagnosticar la enfermedad y crear tratamientos personalizados.<sup>9</sup> También se han creado organoides de médula espinal humana que muestran actividad neuronal funcional y son prometedores para investigar terapias para la LME.<sup>10</sup>

Los dispositivos microfluídicos son “adaptables para modelar una amplia gama de lesiones” y proporcionan ventajas sobre los experimentos tradicionales *in vivo* e *in vitro*, ya que “permiten a los investigadores (1) examinar el efecto de la lesión en componentes neuronales específicos, (2) aislar mediante fluidos las regiones neuronales para examinar efectos específicos en componentes subcelulares y (3) crear de forma reproducible una variedad de lesiones para modelar el TCE y la LME”.<sup>11</sup> Por ejemplo, las plataformas de cerebro en chip ofrecen una vía prometedora para la medicina personalizada, ya que las propias células de un paciente pueden usarse para crear un dispositivo a medida que permita investigar opciones de tratamiento.<sup>12</sup> Los axones en chip pueden servir para modelar lesiones axonales difusas, lo que permite hacer seguimiento a los cambios intracelulares inmediatamente después de la lesión y ofrece una plataforma para evaluar tratamientos.<sup>13</sup> Estos sistemas tienen ventajas en precisión, escalabilidad y costo-efectividad en comparación con los cultivos celulares tradicionales o los experimentos en animales y están disponibles en el mercado para la investigación en medicina regenerativa neuronal.<sup>7</sup>

## Referencias

1. Akhtar AZ, Pippin JJ, Sandusky CB. Animal models in spinal cord injury: a review. *Rev Neurosci*. 2008;19(1):47-60. doi:10.1515/REVNEURO.2008.19.1.47
2. Angius D, Wang H, Spinner RJ, Gutierrez-Cotto Y, Yaszemski MJ, Windebank AJ. A systematic review of animal models used to study nerve regeneration in tissue-engineered scaffolds. *Biomaterials*. 2012;33(32):8034-8039. doi:10.1016/j.biomaterials.2012.07.056
3. Akhtar AZ, Pippin JJ, Sandusky CB. Animal studies in spinal cord injury: a systematic review of methylprednisolone. *Altern Lab Anim*. 2009;37(1):43-62. doi:10.1177/0261192909030700108
4. Kaplan HM, Mishra P, Kohn J. The overwhelming use of rat models in nerve regeneration research may compromise designs of nerve guidance conduits for humans. *J Mater Sci: Mater Med*. 2015;26(8):226. doi:10.1007/s10856-015-5558-4
5. Gliksten L, Yip PK. Current spinal cord injury animal models are too simplistic for clinical translation. *J Exp Neurol*. 2023;4(1):6-10. doi:10.33696/Neuro.4.068
6. Cherlyan T, Ryan DJ, Weinreb JH, et al. Spinal cord injury models: a review. *Spinal Cord*. 2014;52(8):588-595. doi:10.1038/sc.2014.91
7. Mobini S, Song YH, McCrary MW, Schmidt CE. Advances in ex vivo models and lab-on-a-chip devices for neural tissue engineering. *Biomaterials*. 2019;198:146-166. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.05.012
8. Zhuang P, Sun AX, An J, Chua CK, Chew SY. 3D neural tissue models: from spheroids to bioprinting. *Biomaterials*. 2018;154:113-133. doi:10.1016/j.biomaterials.2017.10.002
9. Beltrán SM, Bobo J, Habib A, et al. Characterization of neural mechanotransduction response in human traumatic brain injury organoid model. *Sci Rep*. 2023;13(1):13536. doi:10.1038/s41598-023-40431-y
10. Xue W, Li B, Liu H, et al. Generation of dorsoventral human spinal cord organoids via functionalizing composite scaffold for drug testing. *iScience*. 2023;26(1):105898. doi:10.1016/j.isci.2022.105898
11. Shirrao AB, Kung FH, Omelchenko A, et al. Microfluidic platforms for the study of neuronal injury in vitro. *Biotechnol Bioeng*. 2018;115(4):830. doi:10.1002/BIT.26519
12. Amirifar L, Shamlou A, Nasiri R, et al. Brain-on-a-chip: recent advances in design and techniques for microfluidic models of the brain in health and disease. *Biomaterials*. 2022;285:121531. doi:10.1016/j.biomaterials.2022.121531
13. Pan X, Li J, Li W, et al. Axons-on-a-chip for mimicking non-disruptive diffuse axonal injury underlying traumatic brain injury. *Lab Chip*. 2022;22(23):4541-4555. doi:10.1039/D2LC00730D

## Enfermedades neurodegenerativas

Existe suficiente bibliografía que documenta los fracasos de diversos modelos animales de enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Huntington (EH) y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Aunque se podría escribir un extenso apéndice para cada enfermedad, muchas de las mismas limitaciones de los modelos animales obstaculizan la traslación entre estas afecciones, y se discutirán brevemente en conjunto.

Todas estas enfermedades son específicas de los humanos y no ocurren de forma natural en otros animales. No se ha desarrollado ningún modelo animal que sintetice todos los aspectos de una enfermedad neurodegenerativa en particular.<sup>1</sup> En cuanto a la investigación de la EA, la tasa de fracaso clínico de los nuevos fármacos se estimó por última vez en un 99,6%,<sup>2,3</sup> y los recientes medicamentos monoclonales aprobados para la EA son problemáticos debido a sus efectos adversos y cuestionable eficacia.<sup>4,5</sup>

Un análisis bioinformático que comparó las firmas transcripcionales de la EA, la EP, la EH y la ELA humanas con modelos de ratón de estas enfermedades concluyó lo siguiente:

[L]a mayoría de los modelos de ratón disponibles para enfermedades neurodegenerativas no logra recapitular las alteraciones transcripcionales más destacadas de la neurodegeneración humana

e incluso los mejores modelos disponibles muestran diferencias significativas y reproducibles en comparación con la neurodegeneración humana. Aunque fueron varias las razones del mal desempeño transcripcional de los modelos de ratón, el común denominador fue el fracaso de [estos] modelos... a la hora de mostrar la variedad y gravedad de los diversos defectos observados en la neurodegeneración humana.<sup>6</sup>

Estas discrepancias moleculares ponen de manifiesto los métodos artificiales usados para crear los modelos animales. A menudo, se causan lesiones físicas o químicas y se administran toxinas de forma sistémica. Estos métodos constituyen factores estresantes agudos, no procesos degenerativos a largo plazo y, por lo tanto, desencadenan respuestas en los animales que no se observan en los pacientes humanos. La naturaleza aguda e inmediata de ciertos modelos de enfermedad, como los modelos animales 6-OHDA y MPTP de la EP y el modelo animal 3-NP de la EH, no logran captar la naturaleza progresiva de los trastornos que pretenden imitar. Además, los experimentadores suelen usar animales jóvenes para “modelar” enfermedades asociadas al envejecimiento,<sup>7</sup> lo que minimiza aún más su relevancia. Por ejemplo, “[I]os modelos de ratón de EA utilizados comúnmente, como el 5x-FAD, muestran depósitos de amiloide a partir de los 2 a 4 meses de edad... Esta acumulación precoz puede traducirse en depósitos de Aβ en humanos de 4 a 8 años, un escenario que no se encuentra ni siquiera en los casos más agresivos”<sup>8</sup> de EA.

Los modelos de ratones modificados genéticamente presentan fenotipos patológicos y conductuales inconsistentes, en parte debido a variaciones en los transgenes usados, inconsistencias en la inserción y la expresión de los transgenes y diferencias en los antecedentes genéticos de los ratones.<sup>9</sup> Hasta 2024, se habían desarrollado 210 modelos transgénicos de roedores para estudiar la EA.<sup>8</sup> Un análisis sobre la relevancia y la validez traslacional de los modelos de ratón describió las siguientes deficiencias:

Algunos modelos transgénicos pueden presentar un fenotipo de enfermedad muy agresivo en comparación con la forma humana de la enfermedad... mientras que otros no demuestran aspectos de pérdida y disfunción neuronales... Resulta preocupante, además, el hecho de que los modelos murinos no suelen mostrar una pérdida neuronal significativa, incluso en presencia de depósitos de amiloides, y generan péptidos amiloides diferentes a los que se encuentran en el cerebro humano... En algunos casos, las fallas encontradas en los modelos animales transgénicos reflejan el hecho de que se basan en hipótesis y constructos usados para responderlas que son intrínsecamente erróneos; en otros casos, reflejan la falta de cuidado de los investigadores para garantizar las mejores prácticas en la reproducción y el uso de estos modelos. A pesar

de sus limitaciones, estos modelos defectuosos han sido ampliamente adoptados y su relevancia se ha sobreestimado ante la ausencia de alternativas viables. Su validez solo se menciona superficialmente, mientras se consolidan como práctica habitual y se perpetúan, lo que ha conducido al área [de investigación] a un callejón sin salida.<sup>3</sup>

Las diferencias genéticas fundamentales dificultan aún más la traslación. Por ejemplo, “los modelos *knock-in* requieren la presencia de múltiples mutaciones de proteína precursora amiloide (APP) que no se encuentran en humanos”, la proteína T (o tau) murina difiere estructuralmente de la proteína T humana y “las sustituciones de aminoácidos clave hacen que la A $\beta$  murina sea menos propensa a la agregación en comparación con su homóloga humana”.<sup>8</sup> Estas diferencias hacen que los modelos animales de enfermedades neurodegenerativas sean engañosos y generen una pérdida de tiempo valioso: en el caso de un objetivo genético para la investigación de la EA previamente identificado como sobreexpresado en modelos de ratón, como era de esperar, no se encontró sobreexpresado en humanos en un reciente estudio *post mortem*.<sup>10</sup> Para la EP, los estudios en primates no humanos no “constituyen una modalidad científica válida para comprender completamente la EP ni para desarrollar futuras estrategias terapéuticas de neuromodulación”.<sup>11</sup>

Como en gran parte de la investigación biomédica, los animales sufren enormemente cuando se usan para imitar enfermedades neurodegenerativas. En un análisis de las investigaciones publicadas sobre modelos animales de la EH, 51 estudios hacían referencia a experimentos “en los que se esperaba que los animales desarrollaran déficits motores tan graves que tendrían dificultades para comer y beber con normalidad”.<sup>12</sup> Sin embargo, solo en tres de estos estudios se adaptó el área de confinamiento de los animales para facilitar la ingesta de comida y agua. El análisis concluyó que los experimentadores no están cumpliendo los principios de las 3R y ponen en peligro no solo el bienestar de los animales, sino la relevancia de sus estudios para la EH.<sup>12</sup>

Dadas las fallas de los experimentos en animales, la comunidad científica y las instancias legislativas han venido reconociendo la necesidad de contar con estrategias de investigación relevantes para los humanos. Tras una revisión de la investigación sobre la EA, un panel interdisciplinario recomendó reasignar la financiación previamente destinada a estudios en animales a técnicas más prometedoras, como los modelos de hiPSC derivadas de pacientes, la tecnología “ómica” (genómica, proteómica, etc.), los modelos *in silico*, la neuroimagen y los estudios epidemiológicos.<sup>13</sup>

Estos son algunos ejemplos de investigación de vanguardia y relevante para los humanos sobre enfermedades neurodegenerativas:

- Un equipo del Hospital Brigham and Women diferenció hiPSC en neuronas que desarrollan rápidamente inclusiones proteicas que imitan las que se encuentran en los cerebros de individuos que murieron con inclusionopatías. Con este método, se crearon más de 60 modelos celulares humanos que otros laboratorios pueden usar para estudiar enfermedades neurodegenerativas humanas.<sup>14</sup>
- En la Universidad de Washington en St. Louis usaron células de pacientes con EA para desarrollar un modelo celular humano tridimensional relevante para la EA de inicio tardío (que representa el 95% de los casos). Este modelo permite estudiar la neurodegeneración asociada a la edad.<sup>15</sup> Otro equipo de la misma institución realizó un estudio proteómico del líquido cefalorraquídeo de pacientes con EA para identificar biomarcadores que puedan detectarse décadas antes de que aparezcan los síntomas.<sup>16</sup>
- Investigadores del Instituto de Ciencia y Tecnología de Barcelona desarrollaron un órgano en chip para evaluar la permeabilidad cerebral de los nanoterapéuticos y facilitar la investigación y la terapia personalizadas de la EA.<sup>17</sup>
- En el Vienna BioCenter crearon un modelo *in vitro* del sistema dopaminérgico humano con ensambloides de mesencéfalo ventral-estriato-corteza para mejorar el estudio de los tratamientos celulares de la EP.<sup>18</sup>
- Un equipo de la Universidad de Luxemburgo usó organoides y ensambloides humanos –incluidos los desarrollados con células de pacientes– para comprender las primeras fases de la EP y los factores que influyen en la susceptibilidad.<sup>19,20</sup>
- Emulate, Inc., con sede en Boston, diseñó un cerebro humano en chip que representa áreas afectadas por la EP, reproduce características de la enfermedad y puede usarse para identificar y probar nuevos tratamientos.<sup>21</sup>
- En Alemania, un equipo usó organoides cerebrales humanos para identificar un gen afectado en la EH que puede dañar el cerebro antes de que aparezcan los síntomas y que podría servir como foco para el desarrollo de medicamentos. Restaurar la función de este gen revirtió el fenotipo de la EH.<sup>22</sup>
- En la Universidad de Florida Central usaron células de pacientes con ELA para desarrollar una unión neuromuscular específica de la enfermedad en chip y evaluaron los efectos de un compuesto en medidas funcionales clínicamente relevantes de la ELA.<sup>23</sup>
- Un equipo de la Universidad de Utrecht usó organoides cerebrales humanos para comprender mejor los cambios sinápticos en pacientes con ELA antes de la aparición de los síntomas.<sup>24</sup>

Durante décadas, los experimentadores han atormentado a monos, ratones, perros y otros animales en un esfuerzo por modelar estas enfermedades devastadoras. Sin embargo, dado que otros animales no desarrollan estas enfermedades neurodegenerativas humanas de forma natural, los experimentadores han manipulado los genomas para forzar síntomas moderados. Los resultados, tras décadas de pruebas, incluyen más de 100 medicamentos fallidos, un número incalculable de muertes de animales y el sufrimiento continuo de los humanos que viven con estas afecciones. Es

preciso usar métodos relevantes para los humanos para ofrecerles alternativas efectivas a estos pacientes.

## Referencias

1. Potashkin JA, Blume SR, Runkle NK. Limitations of animal models of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis*. 2011;2011(1):658083. doi:10.4061/2011/658083
2. Cummings JL, Morstorf T, Zhang K. Alzheimer's disease drug-development pipeline: few candidates, frequent failures. *Alzheimers Res Ther*. 2014;6(4):37. doi:10.1186/alzrt269
3. Mullane K, Williams M. Preclinical models of Alzheimer's disease: relevance and translational validity. *Curr Protoc Pharmacol*. 2019;84(1):e57. doi:10.1002/cpph.57
4. Burke JF, Kerber KA, Langa KM, Albin RL, Kotagal V. Lecanemab: Looking before we leap. *Neurology*. 2023;101(15):661-665. doi:10.1212/WNL.000000000000207505
5. Hailund-Carlsen PF, Alavi A, Barrio JR, et al. Donanemab, another anti-Alzheimer's drug with risk and uncertain benefit. *Ageing Res Rev*. 2024;99:102348. doi:10.1016/j.arr.2024.102348
6. Burns TC, Li MD, Mehta S, Awad AJ, Morgan AA. Mouse models rarely mimic the transcriptome of human neurodegenerative diseases: a systematic bioinformatics-based critique of preclinical models. *Eur J Pharmacol*. 2015;759:101-117. doi:10.1016/j.ejphar.2015.03.021
7. Lane E, Dunnett S. Animal models of Parkinson's disease and L-dopa induced dyskinesia: how close are we to the clinic? *Psychopharmacology (Berl)*. 2008;199(3):303-312. doi:10.1007/s00213-007-0931-8
8. Granzotto A, Vissel B, Sensi SL. Lost in translation: inconvenient truths on the utility of mouse models in Alzheimer's disease research. Behrens TE, ed. *eLife*. 2024;13:e90633. doi:10.7554/eLife.90633
9. Ehrnhoefer DE, Butland SL, Pouladi MA, Hayden MR. Mouse models of Huntington disease: variations on a theme. *Dis Model Mech*. 2009;2(3-4):123-129. doi:10.1242/dmm.002451
10. Aghaizu ND, Jolly S, Samra SK, et al. Microglial expression of the Wnt signaling modulator DKK2 differs between human Alzheimer's disease brains and mouse neurodegeneration models. *eNeuro*. 2023;10(1). doi:10.1523/ENEURO.0306-22.2022
11. Menache A, Beuter A. Lessons from the analysis of non-human primates for understanding human aging and neurodegenerative diseases. *Front Hum Neurosci*. 2016;10. doi:10.3389/fnhum.2016.00033
12. Olsson IAS, Hansen AK, Sandøe P. Animal welfare and the refinement of neuroscience research methods—a case study of Huntington's disease models. *Lab Anim*. 2008;42(3):277-283. doi:10.1258/la.2008.007147
13. Pistalillo F, Dhayan EL, Lam A, et al. Alzheimer disease research in the 21<sup>st</sup> century: past and current failures, new perspectives and funding priorities. *Oncotarget*. 2016;7(26):38999-39016. doi:10.18632/oncotarget.9175
14. Lam I, Ndayisaba A, Lewis AJ, et al. Rapid iPSC inclusionopathy models shed light on formation, consequence, and molecular subtype of  $\alpha$ -synuclein inclusions. *Neuron*. 2024;112(17):2886-2909.e16. doi:10.1016/j.neuron.2024.06.002
15. Sun Z, Kwon JS, Ren Y, et al. Modeling late-onset Alzheimer's disease neuropathology via direct neuronal reprogramming. *Science*. 2024;385(6708):ad2992. doi:10.1126/science.ad2992
16. Shen Y, Timsina J, Heo G, et al. CSF proteomics identifies early changes in autosomal dominant Alzheimer's disease. *Cell*. 2024;187(22):6309-6326.e15. doi:10.1016/j.cell.2024.08.049
17. Palma-Florez S, López-Canosa A, Moralez-Zavala F, et al. BBB-on-a-chip with integrated micro-TEER for permeability evaluation of multi-functionalized gold nanorods against Alzheimer's disease. *J Nanobiotechnology*. 2023;21:115. doi:10.1186/s12951-023-01798-2
18. Reumann D, Krauditsch C, Novotchkova M, et al. In vitro modeling of the human dopaminergic system using spatially arranged ventral midbrain-striatum-cortex assembloids. *Nat Methods*. 2023;20(12):2034-2047. doi:10.1038/s41592-023-02080-x
19. Rosety I, Zagare A, Saraiva C, et al. Impaired neuron differentiation in GBA-associated Parkinson's disease is linked to cell cycle defects in organoids. *NPJ Parkinsons Dis*. 2023;9(1):1-16. doi:10.1038/s41531-023-00616-8
20. Barmpa K, Saraiva C, Lopez-Pigazzi D, et al. Modeling early phenotypes of Parkinson's disease by age-induced midbrain-striatum assembloids. *Commun Biol*. 2024;7(1):1-19. doi:10.1038/s42003-024-07273-4
21. Pediaditakis I, Kodella KR, Monataki DV, et al. Modeling alpha-synuclein pathology in a human brain-chip to assess blood-brain barrier disruption. *Nat Commun*. 2021;12(1):5907. doi:10.1038/s41467-021-26066-5
22. Lisowski P, Lickfett S, Rybak-Wolf A, et al. Mutant huntingtin impairs neurodevelopment in human brain organoids through CHCHD2-mediated neurometabolic failure. *Nat Commun*. 2024;15(1):7027. doi:10.1038/s41467-024-51216-w
23. Badu-Mensah A, Guo X, Mendez R, Parsoud H, Hickman JJ. The effect of skeletal muscle-specific creatine treatment on ALS NMJ integrity and function. *Int J Mol Sci*. 2023;24(17):13519. doi:10.3390/ijms241713519
24. van der Geest AT, Jakobs CE, Ljubkij T, et al. Molecular pathology, developmental changes and synaptic dysfunction in (pre-) symptomatic human C9orf72-ALS/FTD cerebral organoids. *Acta Neuropathol Commun*. 2024;12(1):152. doi:10.1186/s40478-024-01857-1

## Trastornos neuropsiquiátricos y neurodivergencia

Al igual que muchos otros modelos animales de enfermedades humanas, aquellos usados en un intento de estudiar los trastornos

neuropsiquiátricos humanos y la neurodivergencia carecen de validez de constructo porque los mecanismos fundamentales que crean los síntomas observados en animales son diferentes de los que causan el trastorno en humanos. También carecen de validez aparente porque los animales no pueden “recapitular características anatómicas, bioquímicas, neuropatológicas o conductuales importantes de una enfermedad humana”<sup>1</sup> Por último, carecen de validez predictiva porque los resultados de los experimentos en animales no se traducen de forma confiable en resultados similares en humanos.

Ningún modelo animal es capaz de reproducir todos los aspectos de un trastorno neuropsiquiátrico concreto. Además, los rasgos del comportamiento humano propios de estos trastornos no pueden producirse con precisión ni evaluarse adecuadamente en animales.

Por ejemplo, los trastornos depresivos humanos se caracterizan, en parte, por sentimientos de tristeza y desesperanza o desesperación. En un esfuerzo por medir la “desesperación” en roedores, la prueba de comportamiento más usada es la de nado forzado, en la que se arroja una rata o un ratón en un recipiente con agua sin posibilidad de escapar ni de descansar fuera del agua. Los experimentadores interpretan erróneamente la cantidad de tiempo que el animal pasa nadando o luchando por escapar como una medida de la falta de desesperación del animal. Esta noción errónea se originó a partir de la observación de que el tiempo de nado y lucha podía prolongarse si se administraba algún tipo de antidepresivo humano al animal. Sin embargo, esta suposición ignora los numerosos falsos positivos y falsos negativos que produce la prueba. Como se ha debatido ampliamente en la bibliografía científica, el comportamiento de un animal en la prueba de nado forzado puede representar una adaptación evolutiva a la situación estresante y no debe usarse para determinar su estado de ánimo.<sup>2</sup> La cepa del animal y muchas variaciones experimentales, como la profundidad del agua, las dimensiones del recipiente y la temperatura,<sup>3-6</sup> pueden influir en los resultados.

Una neurocientífica de PETA y sus colaboradores han publicado artículos que llaman la atención sobre la falta de validez de la prueba de nado forzado para la evaluación de fármacos antidepresivos. Su estudio reveló que el uso de esta prueba por parte de las 15 empresas farmacéuticas más grandes del mundo no produjo ningún fármaco actualmente aprobado para el tratamiento de la depresión en humanos.<sup>7</sup> Su trabajo también señala los pasos que los entes reguladores podrían adoptar para eliminar el uso de la prueba de nado forzado (y la prueba similar de suspensión por la cola) en la industria farmacéutica.<sup>8</sup>

Otras pruebas de comportamiento animal, como la de preferencia por la sacarosa para detectar la anhedonia,<sup>9-11</sup> la de campo abierto y los laberintos elevados para detectar la ansiedad,<sup>12,13</sup> el enterramiento de canicas para detectar la compulsión,<sup>14</sup> y el estrés crónico impredecible para inducir psicopatologías<sup>15</sup> presentan fallas similares. Dichas falencias han llevado a concluir

que “algunos de estos ensayos deben suspenderse y dejarse en el pasado mientras buscamos estrategias mejores e innovadoras para medir resultados”.<sup>16</sup>

Una serie de análisis de citas bibliográficas sirvió para demostrar que los investigadores que estudian el trastorno depresivo mayor en humanos rara vez citan resultados de experimentos en ratas o monos, dos de las especies más usadas en este campo. En su lugar, se basan con mayor frecuencia en los resultados de investigaciones con células humanas y datos biológicos humanos.<sup>17-19</sup> Los experimentos en animales tampoco han contribuido al conocimiento clínico en la investigación de la depresión bipolar,<sup>20</sup> y se han señalado como la principal causa del fracaso de los medicamentos en los ensayos clínicos neuroconductuales.<sup>21</sup> A pesar de esto, miles de investigadores han seguido usando pruebas deficientes como la de nado forzado para sacar conclusiones erróneas sobre el estado de ánimo de un animal<sup>22</sup> o los efectos potenciales de los compuestos en los trastornos depresivos humanos.<sup>8</sup>

Las enormes diferencias fisiológicas entre los humanos y otros animales contribuyen a la baja tasa de traslación. Por ejemplo, el gen que codifica la tirosina hidroxilasa, la enzima involucrada en la formación de dopamina, se regula de forma diferente en los humanos que en los ratones.<sup>23</sup> La mala regulación de la tirosina hidroxilasa se ha visto implicada en varias enfermedades psiquiátricas, como el trastorno bipolar y la esquizofrenia. En un estudio publicado en *Nature* en 2019, 64 investigadores analizaron los cerebros de ratones y humanos y encontraron diferencias sustanciales entre especies en los tipos de células cerebrales y las formas en que producen proteínas imprescindibles para la función neuropsiquiátrica. Los autores señalaron numerosos “fracasos en el uso del ratón para estudios preclínicos” debido a “tantas diferencias [entre especies] en la organización celular de la expresión génica”.<sup>24</sup> Los roedores y los humanos también difieren en otras áreas críticas para la investigación neuropsiquiátrica, como la diversidad, la organización y el volumen de los tipos de células neuronales, los circuitos neuronales relevantes, el volumen de neurotransmisores disponibles en tipos celulares específicos y la disponibilidad y cinética de los receptores de neurotransmisores.<sup>25</sup>

Más allá de la falta de aplicabilidad, los modelos neuropsiquiátricos animales causan un inmenso sufrimiento. Para inducir la “depresión”, los experimentadores someten a los animales a un dolor incontrolable mediante descargas eléctricas o estresores crónicos, como inmovilizarlos durante largos períodos, negarles la comida o el agua, inclinar las jaulas, forzarlos a vivir en lechos mojados, sacudirlos o alterar sus ritmos circadianos. A menudo, se obliga a los animales a vivir aislados por completo de otros miembros de su especie, acosados y agredidos físicamente por otros animales, privados de cuidados parentales y sometidos a manipulaciones genéticas o quirúrgicas para inducirles un estado mental alterado o similar a la depresión. En este campo en particular, “es probable que los animales sean sometidos a procedimientos experimentales que no aportan el beneficio

epistémico por el que los sacrificamos”.<sup>26</sup>

Los recursos financieros deben reorientarse hacia métodos experimentales relevantes, basados en la biología humana, incluidos los siguientes:

- Organoides cerebrales humanos: cultivos avanzados de células cerebrales humanas *in vitro* y 3D que reproducen la organización celular y las señales del tejido cerebral humano. Se han usado para estudiar los trastornos del estado de ánimo, las psicosis y la neurodivergencia.<sup>25,27-29</sup> Los organoides pueden combinarse para formar ensamblajes autoorganizados que imitan interacciones complejas entre distintas partes del cerebro,<sup>28,30</sup> como el circuito córtico-estriatal-tálámico-cortical y los ensamblajes tálamo-corticales desarrollados recientemente por un equipo de la Universidad de Stanford para estudiar afecciones de neurodesarrollo humano como el autismo, el síndrome de Tourette y la esquizofrenia.<sup>31,32</sup> Investigadores de la Universidad de California en San Diego y de la Universidad de Massachusetts en Amherst están desarrollando organoides cerebrales para enfermedades específicas y aplicaciones terapéuticas a partir de células de pacientes con mutaciones genéticas vinculadas a trastornos neuropsiquiátricos.<sup>33-35</sup>
- Investigación ómica: se está aplicando para comprender mejor los fundamentos de las afecciones neuropsiquiátricas humanas. El Consorcio PsychENCODE, una coalición de equipos multidisciplinares, usa métodos de vanguardia para crear grandes bases de datos a partir de muestras de cerebro humano *post mortem*.<sup>36</sup> Algunos equipos analizan los datos existentes para caracterizar las variantes genéticas relacionadas con estos trastornos.<sup>37</sup>
- Imágenes cerebrales: técnicas como la magnetoencefalografía, la electroencefalografía de alta densidad, la espectroscopía de resonancia magnética, la morfometría basada en transporte y la resonancia magnética funcional, a menudo combinadas con el aprendizaje automático y la genómica, se están usando para estudiar las afecciones psiquiátricas humanas y la neurodivergencia directamente en personas que viven con estas condiciones.<sup>38-42</sup>
- Estudios longitudinales: el seguimiento de los individuos durante períodos prolongados permite obtener información sobre los efectos de los estímulos ambientales, los antecedentes médicos y los acontecimientos vitales en la incidencia y la progresión de las afecciones del neurodesarrollo.<sup>43,44</sup>
- Ensayos clínicos *in silico*: se han usado modelos virtuales de pacientes para evaluar el potencial de medicamentos para afecciones como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad y la esquizofrenia.<sup>45,46</sup>

Dada la angustia que se causa a los animales y la inaplicabilidad de los resultados a los humanos, debería eliminarse el uso de animales en experimentos de neuropsiquiatría y neurodivergencia humanas. Los recursos financieros deben orientarse hacia la investigación basada en la biología humana, como los ejemplos citados anteriormente.

## Referencias

- Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*. 2010;13(10):1161-1169. doi:10.1038/nn.2647
- Molendijk ML, de Kloet ER. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;62:389-391. doi:10.1016/j.psyneuen.2015.08.028
- De Pablo JM, Parra A, Segovia S, Guillaumón A. Learned immobility explains the behavior of rats in the forced swimming test. *Physiol Behav*. 1989;46(2):229-237. doi:10.1016/0031-9384(89)90261-8
- Jefferys D, Funder J. The effect of water temperature on immobility in the forced swimming test in rats. *Eur J Pharmacol*. 1994;253(1-2):91-94. doi:10.1016/0014-2999(94)90761-7
- Lucki I, Dalvi A, Mayorga AJ. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001;155(3):315-322. doi:10.1007/s002130100694
- Rosas-Sánchez GU, German-Panciano LJ, Rodríguez-Landa JF. Considerations of pool dimensions in the forced swim test in predicting the potential antidepressant activity of drugs. *Front Behav Neurosci*. 2022;15:757348. doi:10.3389/fnbeh.2021.757348
- Trunnell ER, Carvalho C. The forced swim test has poor accuracy for identifying novel antidepressants. *Drug Discov Today*. 2021;26(12):2898-2904. doi:10.1016/j.drudis.2021.08.003
- Trunnell ER, Baines J, Farghali S, et al. The need for guidance in antidepressant drug development: revisiting the role of the forced swim test and tail suspension test. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2024;151:105666. doi:10.1016/j.yrtph.2024.105666
- Berria JP, Hestehave S, Kallioikoski O. Reliability of sucrose preference testing following short or no food and water deprivation—a systematic review and meta-analysis of rat models of chronic unpredictable stress. *Transl Psychiatry*. 2024;14(1):1-10. doi:10.1038/s41398-024-02742-0
- Scheeggi S. Still controversial issues on assessing anhedonia in experimental modeling of depression. *Transl Psychiatry*. 2024;14(1):1-2. doi:10.1038/s41398-024-03057-w
- Verharen JPH, de Jong JW, Zhu Y, Lammel S. A computational analysis of mouse behavior in the sucrose preference test. *Nat Commun*. 2023;14(1):2419. doi:10.1038/s41467-023-38028-0
- Väikar V, Stanford SC. The open field test. In: Harro J, ed. *Psychiatric Vulnerability, Mood, and Anxiety Disorders: Tests and Models in Mice and Rats*. Springer US; 2023:9-29. doi:10.1007/978-1-0716-2748-8\_2
- Rossa M, Wirz R, Loretan AV, et al. Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: a systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022;143:104928. doi:10.1016/j.neubiorev.2022.104928
- Dixit PV, Sahu R, Mishra DK. Marble-burying behavior test as a murine model of compulsive-like behavior. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2020;102:106676. doi:10.1016/j.vascn.2020.106676
- Markov DD, Novosadova EV. Chronic unpredictable mild stress model of depression: possible sources of poor reproducibility and latent variables. *Biology (Basel)*. 2022;11(11):1621. doi:10.3390/biology11111621
- Silverman JL. Animal models for psychiatric research: novel directions for behavioral neuroscience in translation. *Neurosci Biobehav Rev*. 2023;152:105309. doi:10.1016/j.neubiorev.2023.105309
- Carvalho C, Varela SAM, Marques TA, Knight A, Vicente L. Are in vitro and in silico approaches used appropriately for animal-based major depressive disorder research? *PLoS One*. 2020;15(6):e0233954. doi:10.1371/journal.pone.0233954
- Carvalho C, Peste F, Marques TA, Knight A, Vicente LM. The contribution of rat studies to current knowledge of major depressive disorder: results from citation analysis. *Front Psychol*. 2020;11:1486. doi:10.3389/fpsyg.2020.01486
- Carvalho C, Herrmann K, Marques TA, Knight A. Time to abolish the forced swim test in rats for depression research? *JAAE*. 2021;4(2):170-178. doi:10.1163/25889567-BJA10026
- Kato T, Kasahara T, Kubota-Sakashita M, Kato TM, Nakajima K. Animal models of recurrent or bipolar depression. *Neuroscience*. 2016;321:189-196. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.08.016
- Garner JP. The significance of meaning: why do over 90% of behavioral neuroscience results fail to translate to humans, and what can we do to fix it? *ILAR J*. 2014;55(3):438-456. doi:10.1093/ilar/ilu047
- Molendijk ML, de Kloet ER. Forced swim stressor: trends in usage and mechanistic consideration. *Eur J Neurosci*. 2022;55(9-10):2813-2831. doi:10.1111/EJN.15139
- Jin H, Romano G, Marshall C, Donaldson AE, Suan S, Iacovitti L. Tyrosine hydroxylase gene regulation in human neuronal progenitor cells does not depend on Nurr1 as in the murine and rat systems. *J Cell Physiol*. 2006;207(1):49-57. doi:10.1002/jcp.20534
- Hodge RD, Bakken TE, Miller JA, et al. Conserved cell types with divergent features in human versus mouse cortex. *Nature*. 2019;573(7772):61-68. doi:10.1038/s41586-019-1506-7
- Dixon TA, Muotri AR. Advancing preclinical models of psychiatric disorders with human brain organoid cultures. *Mol Psychiatry*. 2023;28(1):83-95. doi:10.1038/s41380-022-01708-2
- Figdor C. Animal models in neuropsychiatry: do the benefits outweigh the moral costs? *Camb Q Healthc Ethics*. 2022;31(4):530-535. doi:10.1017/S0963180122000147
- Urenda JP, Dossa AD, Birtele M, Quadrato G. Present and future modeling of human psychiatric connectopathies with brain organoids. *Biol Psychiatry*. 2023;93(7):606-615. doi:10.1016/j.biopsych.2022.12.017
- Levy RJ, Pascoa SP. What have organoids and assembloids taught us about the pathophysiology of neuropsychiatric disorders? *Biol Psychiatry*. 2023;93(7):632-641. doi:10.1016/j.biopsych.2022.11.017
- Li C, Fleck JS, Martins-Costa C, et al. Single-cell brain organoid screening identifies developmental defects in autism. *Nature*. 2023;621(7978):373-380. doi:10.1038/s41586-023-06473-y
- Onesto MM, Kim JI, Pascoa SP. Assembloid models of cell-cell interaction to study tissue and disease biology. *Cell Stem Cell*. 2024;31(11):1563-1573. doi:10.1016/j.stem.2024.09.017
- Miura Y, Kim JI, Jurjut O, et al. Assembloid model to study loop circuits of the human nervous system. Published online October 14, 2024. doi:10.1101/2024.10.13.617729. doi:10.1101/2024.10.13.617729
- Kim JI, Miura Y, Li MY, et al. Human assembloids reveal the consequences of CACNA1G gene variants in the thalamocortical pathway. *Neuron*. 2024;0(0). doi:10.1016/j.neuron.2024.09.020
- Courchesne E, Taluja V, Nazari S, et al. Embryonic origin of two ASD subtypes of social symptom severity: the larger the brain cortical organoid size, the more severe the social symptoms. *Mol Autism*. 2024;15(1):22. doi:10.1186/s13229-024-00602-8
- Papes F, Camargo AP, de Souza JS, et al. Transcription Factor 4 loss-of-function is associated with deficits in progenitor proliferation and cortical neuron content. *Nat Commun*. 2022;13(1):2387. doi:10.1038/s41467-022-29942-w
- Sebastian R, Jin K, Pavan N, et al. Schizophrenia-associated NRXN1 deletions induce developmental-timing- and cell-type-specific vulnerabilities in human brain organoids. *Nat Commun*. 2023;14(1):3770. doi:10.1038/s41467-023-39420-6
- Science. PsychENCODE2. AAAS. 2024. Accessed December 2, 2024. <https://www.science.org/collections/psychencode2>
- Lynall ME, Sostik B, Hayhurst J, et al. Genetic variants associated with psychiatric disorders are enriched at epigenetically active sites in lymphoid cells. *Nat Commun*. 2022;13(1):6102. doi:10.1038/s41467-022-33885-7
- Kundu S, Sair H, Sherr EH, Mukherjee P, Rohde GK. Discovering the gene-brain-behavior link in autism via generative machine learning. *Sci Adv*. 2024;10(24):ead15307. doi:10.1126/sciadv.ad15307
- Gaudfrenau F, Lefebvre A, Engemann DA, et al. Cortico-cerebellar neurodynamics during social interaction in autism spectrum disorders. *NeuroImage Clin*. 2023;39:103465. doi:10.1016/j.nicl.2023.103465
- Wang M, Barker PB, Cascello NG, et al. Longitudinal changes in brain metabolites in healthy controls and patients with first episode psychosis: a 7-Tesla MRS study. *Mol Psychiatry*. 2023;28(5):2018-2029. doi:10.1038/s41380-023-01969-5
- Nour MM, McNamee DC, Liu Y, Dalan RJ. Trajectories through semantic spaces in schizophrenia and the relationship to ripple bursts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(42):e2305290120. doi:10.1073/pnas.2305290120
- Tozzi L, Zhang X, Pines A, et al. Personalized brain circuit scores identify clinically distinct biotypes in depression and anxiety. *Nat Med*. 2024;30(7):2076-2087. doi:10.1038/s41591-024-03057-9
- Arnold C. Discovering how environment affects autism. *Hopkins Bloomberg Public Health*. November 3, 2023. Accessed December 2, 2024. <https://magazine.publichealth.jhu.edu/2023/discovering-how-environment-affects-autism>
- Ahrens AP, Hyötyläinen T, Petrone JR, et al. Infant microbes and metabolites point to childhood neurodevelopmental disorders. *Cell*. 2024;187(8):1853-1873.e15. doi:10.1016/j.cell.2024.02.035
- Gutiérrez-Casares JR, Quintero J, Segú-Vergés C, et al. In silico clinical trial evaluating lisdexamfetamine's and methylphenidate's mechanism of action computational models in an attention-deficit/hyperactivity disorder virtual patients' population. *Front Psychiatry*. 2023;14:939650. doi:10.3389/fpsyg.2023.939650
- Siekmeier PJ. An in silico, biomarker-based method for the evaluation of virtual neuropsychiatric drug effects. *Neural Comput*. 2017;29(4):1021-1052. doi:10.1162/NECO\_a\_00944

## Preparación ante una pandemia

Decir que la pandemia del COVID-19 cambió la vida tal como la conocíamos es quedarse corto. Sin embargo, algo que se puede rescatar es su potencial para conducir a una era completamente nueva de investigación biomédica y desarrollo de vacunas. Para acelerar el desarrollo de la vacuna contra el COVID-19, tanto la FDA como los NIH autorizaron ensayos clínicos de vacunas en humanos sin exigir exhaustivas pruebas en animales previamente. En su lugar, las pruebas en humanos y animales se realizaron de forma paralela<sup>1</sup>, un cambio que PETA instó a la FDA a extender a todos los fármacos nuevos en desarrollo (comunicación por correo electrónico, 5 de mayo de 2020, <https://www.peta.org/wp-content/uploads/2020/05/2020.05.05-FDA-Commissioner-COVID-19-letter-FINAL.pdf>).

Aunque la urgencia fue un factor evidente en esta decisión, es esencial señalar que muchas especies no responden a la infección por SARS-CoV-2 de la misma manera que los humanos. Cuando *The New York Times* preguntó sobre los resultados aparentemente prometedores en macacos Rhesus, Malcolm Martin, virólogo de los NIH, “advirtió que los monos son diferentes de los humanos en aspectos importantes”.<sup>2</sup> El entrevistador señaló que “los monos no vacunados en [el experimento] no desarrollaron ninguno de los

síntomas graves que algunas personas presentan tras la infección por coronavirus; según Martín, solo “parece que estuvieran resfriados”.<sup>2</sup> Incluso los ratones modificados genéticamente, a quienes se hace susceptibles a la enfermedad, solo muestran síntomas leves. Los ratones “humanizados” (diseñados para expresar factores inmunitarios humanos) no resuelven este problema, ya que “muchos factores humanos reaccionan de forma cruzada con células murinas, lo que puede causar cambios fenotípicos inesperados”.<sup>3</sup>

Con la pandemia de COVID-19 y los brotes de otras enfermedades infecciosas como la H5N1, se ha hecho más claro que la investigación sobre estas enfermedades y la preparación para afrontar pandemias potenciales deben priorizarse. Los métodos relevantes para los humanos pueden liderar este proceso.

Muchos equipos científicos están usando métodos innovadores sin animales para estudiar los patógenos existentes y los que tienen potencial pandémico. Estos métodos incluyen organoides pulmonares e intestinales humanos, modelos de tejidos respiratorios humanos reconstruidos tridimensionalmente, muestras de tejidos orales humanos de voluntarios sanos, simulación computacional avanzada y supercomputadores, análisis genéticos humanos, ensayos clínicos de provocación en humanos, anticuerpos derivados de humanos y órganos en chip humanos que modelan los pulmones, la boca, los ojos, la nariz y los intestinos humanos. Se espera que los modelos humanos *in vitro* complejos, como los organoides y los órganos en chip, sean especialmente valiosos para la investigación de enfermedades infecciosas y el desarrollo de vacunas y medicamentos antivirales.<sup>3-7</sup> Estos son algunos ejemplos recientes:

- Se están usando organoides de pulmón y cerebro humanos para estudiar los mecanismos de infección por SARS-CoV-2, evaluar tratamientos potenciales e investigar los efectos del virus en el cerebro de individuos sanos y aquellos con comorbilidades.<sup>8-12</sup>
- Un equipo japonés creó hígados en chip específicos de pacientes para explorar la disfunción hepática inducida por el SARS-CoV-2 y evaluar fármacos para tratarla.<sup>13</sup>
- A través de células aisladas de tejido pulmonar humano, un equipo diseñó organoides pulmonares humanos para estudiar la replicación del virus H5N1, la supervivencia de las células huésped y las respuestas inmunitarias pulmonares a diferentes cepas virales.<sup>14</sup>
- De acuerdo con un análisis reciente, “los sistemas microfisiológicos y los organoides ya se utilizan en la I+D farmacéutica porque están prefigurados para superar la brecha traslacional entre los sistemas modelo y los estudios clínicos”.<sup>15</sup> El análisis concluyó que los sistemas complejos derivados de humanos, como los organoides y los sistemas microfisiológicos, serán esenciales para la investigación sobre la infección por filovirus y bornavirus en humanos, para los que “los modelos animales no pueden captar las correspondientes patogénesis y

enfermedad en su totalidad”.<sup>15</sup>

- El virus respiratorio sincitial se está estudiando con muestras *ex vivo* de pacientes para determinar por qué algunos tienen una reacción más grave a la infección<sup>16</sup> y con organoides de vías respiratorias humanas para desarrollar y probar tratamientos con anticuerpos.<sup>17</sup>
- Se ha estudiado a personas con síndromes postinfecciosos como el COVID prolongado y el síndrome de encefalomielitis miálgica o fatiga crónica mediante imágenes cerebrales, análisis de biopsias de piel, sangre y líquido cefalorraquídeo, seguimiento de la alimentación, el sueño y los parámetros cardíacos, entre otros, para determinar el fenotipo de estas afecciones, comprender cómo se producen y explorar posibles tratamientos.<sup>18</sup>
- Se han utilizado herramientas *in silico* en estudios para identificar nuevos usos de medicamentos existentes para el tratamiento del COVID-19.<sup>19</sup>

Además de adoptar métodos sin animales para evaluar y desarrollar tratamientos, es aún más apremiante tomar medidas para prevenir la propagación de patógenos emergentes. Acabar con el secuestro, la importación y la exportación de animales silvestres para su uso en experimentación biomédica es un paso clave. Los macacos de cola larga y los macacos Rhesus son los primates no humanos más usados en experimentación, la especie de primate más comercializada y la que alberga el mayor volumen de posibles enfermedades zoonóticas.<sup>20,21</sup> Aunque los proveedores y compradores de primates dicen apoyar los esfuerzos para reducir el uso en la investigación de macacos capturados en la naturaleza, se ha revelado que los proveedores internacionales han etiquetado falsamente a estos animales como reproducidos en cautiverio y los han vendido a laboratorios.<sup>22</sup> Esta práctica implica un riesgo de propagación de enfermedades y compromete los resultados de los experimentos realizados en dichos animales, cuyos antecedentes de salud se desconocen.

Son comunes la captura y la importación de macacos provenientes de regiones donde es endémica la melioidosis, una enfermedad potencialmente mortal causada por *Burkholderia pseudomallei*. Aunque los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de EE. UU. (CDC) exigen que los monos importados de estas regiones se sometan a una cuarentena obligatoria, la *B. pseudomallei* puede permanecer latente durante largos períodos y se han confinado animales en laboratorios cuando aún estaban infectados.<sup>23</sup> También se han importado macacos que albergaban micobacterias causantes de tuberculosis.<sup>24,25</sup> Según los CDC, “en Estados Unidos, no existe un sistema centralizado para notificar TB en NHPs que no estén en cuarentena según lo exigido por los CDC (un mínimo de 31 días tras la importación). Por lo tanto, se desconoce qué tan frecuente es la TB en los NHP en Estados Unidos”.<sup>26</sup>

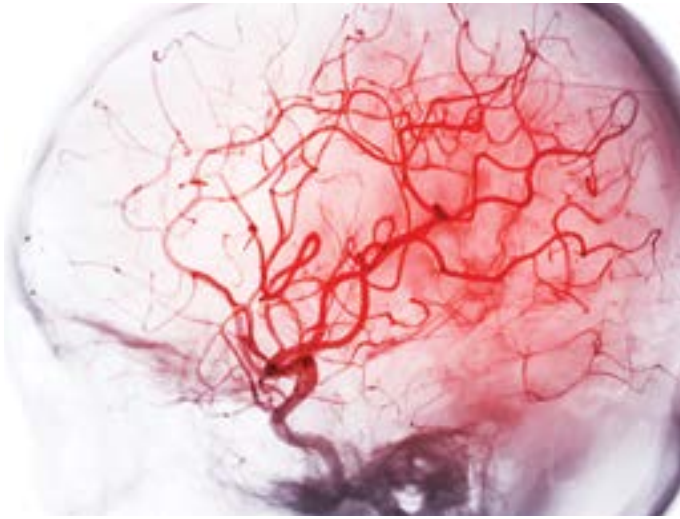
Acabar con el comercio mundial de monos para experimentación eliminaría un importante factor de riesgo en la propagación de enfermedades zoonóticas, reduciría la difusión de datos no confiables derivados de animales de origen desconocido y



estimularía el avance hacia métodos de investigación relevantes para los humanos. Se trata de un paso crucial para proteger la salud pública y prevenir la próxima pandemia.

## Referencias

1. Boodman E. Researchers rush to test coronavirus vaccine in people without knowing how well it works in animals. *STAT*. March 11, 2020. Accessed December 3, 2024. <https://www.statnews.com/2020/03/11/researchers-rush-to-start-moderna-coronavirus-vaccine-trial-without-usual-animal-testing/>
2. Zimmer C. Prototype vaccine protects monkeys from coronavirus. *The New York Times*. <https://www.nytimes.com/2020/05/20/health/coronavirus-vaccine-harvard.html>. May 20, 2020. Accessed December 3, 2024.
3. Hwang KS, Seo EU, Choi N, Kim J, Kim HN. 3D engineered tissue models for studying human-specific infectious viral diseases. *Bioact Mater*. 2023;21:576-594. doi:10.1016/j.bioactmat.2022.09.010
4. Alonso-Roman R, Masig AS, Figge MT, et al. Organ-on-chip models for infectious disease research. *Nat Microbiol*. 2024;9(4):891-904. doi:10.1038/s41564-024-01645-6
5. Morrocchi E, Haren S van, Palma P, Levy O. Modeling human immune responses to vaccination in vitro. *Trends Immunol*. 2024;45(1):32-47. doi:10.1016/j.it.2023.11.002
6. Flagg M, de Wit E. Advancing zoonotic respiratory virus research through the use of organoids. *Curr Opin Virol*. 2024;68-69:101435. doi:10.1016/j.coviro.2024.101435
7. Gebert JT, Scribano F, Engevik KA, Perry JL, Hyser JM. Gastrointestinal organoids in the study of viral infections. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2023;324(1):G51-G59. doi:10.1152/ajpgi.00152.2022
8. Tang X, Xue D, Zhang T, et al. A multi-organoid platform identifies CIART as a key factor for SARS-CoV-2 infection. *Nat Cell Biol*. 2023;25(3):381-389. doi:10.1038/s41556-023-01095-y
9. Leibel SL, McVicar RN, Murad R, et al. A therapy for suppressing canonical and noncanonical SARS-CoV-2 viral entry and an intrinsic intrapulmonary inflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2024;121(30):e2408109121. doi:10.1073/pnas.2408109121
10. Ng JH, Sun A, Je HS, Tan EK. Unravelling pathophysiology of neurological and psychiatric complications of COVID-19 using brain organoids. *Neuroscientist*. 2023;29(1):30-40. doi:10.1177/10738584211015136
11. Shaker MR, Slonchak A, Al-mhanawi B, et al. Choroid plexus defects in Down syndrome brain organoids enhance neurotropism of SARS-CoV-2. *Sci Adv*. 2024;10(23):eadj4735. doi:10.1126/sciadv.adj4735
12. Mesci P, Souza JS de, Martin-Sancho L, et al. SARS-CoV-2 infects human brain organoids causing cell death and loss of synapses that can be rescued by treatment with Sofosbuvir. *PLoS Biol*. 2022;20(11):e3001845. doi:10.1371/journal.pbio.3001845
13. Deguchi S, Kosugi K, Hashimoto R, et al. Elucidation of the liver pathophysiology of COVID-19 patients using liver-on-a-chips. *PNAS Nexus*. 2023;2(3):pgad029. doi:10.1093/pnasnexus/pgad029
14. Flagg M, Williamson BN, Ortiz-Morales JA, Lutterman TR, Wit E de. Comparison of contemporary and historic highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus replication in human lung organoids. *Emerg Infect Dis*. 2025;31(2):318-322. doi:10.3201/eid3102.241147
15. Widerspich L, Steffen JF, Tappe D, Muñoz-Fontela C. Animal model alternatives in filovirus and bornavirus research. *Viruses*. 2023;15(1):158. doi:10.3390/v15010158
16. Altman MC, Reeves SR, Parker AR, et al. Interferon response to respiratory syncytial virus by bronchial epithelium from children with asthma is inversely correlated with pulmonary function. *J Allergy Clin Immunol*. 2018;142(2):451-459. doi:10.1016/j.jaci.2017.10.004
17. van Dijk LLA, Rijsbergen LC, Rubio BT, et al. Virus neutralization assays for human respiratory syncytial virus using airway organoids. *Cell Mol Life Sci*. 2024;81(1):267. doi:10.1007/s00018-024-05307-y
18. Walitt B, Singh K, LaMunion SR, et al. Deep phenotyping of post-infectious myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *Nat Commun*. 2024;15(1):907. doi:10.1038/s41467-024-45107-3
19. Maria NI, Rapiavoli RV, Alaimo S, et al. Application of the PHENotype SIMulator for rapid identification of potential candidates in effective COVID-19 drug repurposing. *Heliyon*. 2023;9(3). doi:10.1016/j.heliyon.2023.e14115
20. Borsky S, Hennighausen H, Leiter A, Williges K. CITES and the zoonotic disease content in international wildlife trade. *Environ Resource Econ (Dordr)*. 2020;76(4):1001-1017. doi:10.1007/s10640-020-00456-7
21. Johnson CK, Hitchens PL, Pandit PS, et al. Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. *Proc Biol Sci*. 2020;287(1924):20192736. doi:10.1098/rspb.2019.2736
22. United States Department of Justice Southern District of Florida. Cambodian officials and six coconspirators indicted for taking part in primate smuggling scheme. *Justice.gov*. November 16, 2022. Accessed December 3, 2024. <https://www.justice.gov/usao-sdfl/pr/cambodian-officials-and-six-co-conspirators-indicted-taking-part-primate-smuggling-0>
23. Toetsch SJ, Swaney EM, Gee JE, et al. Melioidosis in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) imported to the United States from Cambodia. *Comp Med*. 2022;72(6):394-402. doi:10.30802/AALAS-CM-22-000024
24. Swisher SD, Toetsch SJ, Laughlin ME, et al. Outbreak of *Mycobacterium orygis* in a shipment of cynomolgus macaques imported from Southeast Asia—United States, February–May 2023. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2024;73(7):145-148. doi:10.15585/mmwr.mm7307a2
25. Weber K, Mayoral FJ, Vallejo C, et al. Natural outbreak of *Mycobacterium caprae* infection in imported laboratory cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*): diagnostic pitfalls and management of safety precautions. *J Toxicol Pathol*. 2024;37(4):197-206. doi:10.1293/tox.2024-0048
26. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. Tuberculosis and nonhuman primates. Published online July 2023.



## Accidente cerebrovascular

El accidente cerebrovascular (ACV), una enfermedad grave que afecta a los vasos sanguíneos del cerebro, es una de las principales causas de muerte y discapacidad en el continente americano.<sup>1</sup> El ACV se produce cuando se interrumpe el flujo sanguíneo al cerebro, ya sea por un coágulo (ictus isquémico) o por la rotura de un vaso sanguíneo (ictus hemorrágico), lo que causa daños y la muerte de células cerebrales por falta de oxígeno. Tras un ACV isquémico, la recanalización (restablecimiento del flujo sanguíneo al cerebro) es el único tratamiento inmediato disponible en la fase aguda.<sup>2</sup> Cuando es posible, la terapia endovascular es el tratamiento estándar para el ictus isquémico, pero solo es eficaz en aproximadamente el 25% de los casos.<sup>3</sup>

A pesar de que más de mil medicamentos neuroprotectores han resultado prometedores en modelos animales, ninguno se ha traducido en tratamientos eficaces para el ACV en humanos.<sup>4</sup> Nuestra comprensión de los procesos biológicos que promueven la recuperación de los humanos frente a un ACV sigue siendo limitada,<sup>2</sup> y el desarrollo de modelos precisos del sistema nervioso central es un reto debido a la complejidad del cerebro humano. Los modelos animales actuales, que usan principalmente ratas, carecen de características humanas esenciales, difieren de los humanos en la recuperación del ACV y plantean problemas éticos.<sup>4,5</sup> Por ejemplo, el ictus isquémico suele presentarse en adultos mayores con comorbilidades, mientras que los experimentos se llevan a cabo predominantemente en animales jóvenes y sanos que, a menudo, muestran una recuperación espontánea.<sup>6</sup>

Las diferencias significativas en la composición del cerebro –como que la sustancia blanca constituya el 60% del cerebro humano, pero solo el 10% del cerebro de ratón<sup>7</sup>– y las variaciones en la fisiología de la barrera hematoencefálica<sup>8,9</sup> desempeñan funciones cruciales en la patología del ACV. Además, las diferencias en la composición de los coágulos, la función neuronal y los procesos inflamatorios entre especies contribuyen aún más a la escasa traslación de los modelos animales en la investigación del ACV.<sup>10-12</sup>

Un análisis de 16 evaluaciones sistemáticas (que incluían 525 estudios diferentes) sobre intervenciones para el ACV humano probadas en modelos animales reveló que la eficacia de estos experimentos en animales había sido exagerada en aproximadamente un tercio de los estudios debido al sesgo de publicación (la propensión de los investigadores y las revistas científicas a publicar resultados que muestran conclusiones positivas y a omitir estudios con datos negativos o nulos).<sup>13</sup> Los autores de este análisis, publicado en 2010, señalaron que “los participantes en ensayos clínicos pueden correr riesgos innecesarios si se ha exagerado la eficacia en animales”.<sup>13</sup>

El modelado *in silico* puede sustituir la experimentación animal en la investigación del ACV. Proyectos como *IN-Silico trials for treatment of acute Ischemic Stroke* (INSIST) usan pacientes virtuales para simular tratamientos para el ACV y replican características clínicas, como las propiedades de los coágulos, las formas, estructuras y configuraciones espaciales de los vasos y los antecedentes médicos de los pacientes.<sup>14</sup> Estos modelos, que permiten realizar pruebas virtuales de medicamentos y estudiar de manera detallada la trombosis y la perfusión cerebral en humanos, “tienen el potencial de conducir a un diseño más eficaz de los ensayos clínicos en humanos, reducir las pruebas en animales, disminuir los costos de desarrollo y acortar el tiempo de comercialización de nuevos productos médicos”.<sup>14</sup> Un innovador ensayo *in silico* publicado en 2021 permitió predecir las respuestas al tratamiento del aneurisma mediante 164 pacientes virtuales con 82 anatomías únicas.<sup>15</sup> Este modelo superó a los experimentos en animales e identificó nuevos factores de riesgo de fracaso del tratamiento en días en lugar de décadas. El modelado virtual también puede ayudar a tomar decisiones clínicas adaptadas al paciente en casos de ACV y otras afecciones neurológicas. Sin embargo, para hacer avanzar este campo, se necesita urgentemente que se regulen los ensayos *in silico*.<sup>16</sup>

También se están explorando nuevas tecnologías y métodos para fortalecer el proceso de recuperación mediante el uso de células madre para sustituir el tejido cerebral dañado.<sup>5</sup> Recientemente, el tratamiento con células madre que usa médula ósea de pacientes o sangre de cordón umbilical alogénica ha mostrado mejores resultados neurológicos en ensayos clínicos.<sup>2,17-19</sup> En la investigación preclínica, el aislamiento de células madre humanas y de hiPSC ha avanzado el desarrollo de modelos humanos escalables en neurobiología.<sup>4,20</sup> Los sistemas innovadores en 3D, como los órganos en chip y los organoides cerebrales,<sup>21,22</sup> pueden imitar las complejas interacciones celulares y la fisiología *in vivo* mejor que los modelos animales, mientras que la impresión en 3D<sup>23</sup> permite la creación de modelos detallados del sistema nervioso para pruebas preclínicas de medicamentos y aplicaciones clínicas.

Es necesario comprender las interacciones celulares que influyen en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, el edema cerebral y las respuestas neurovasculares en condiciones

patológicas para modelar con precisión las respuestas isquémicas. Dado que estas interacciones afectan en última instancia los resultados del ACV, es esencial crear modelos realistas. La combinación de hiPSC con tecnologías avanzadas de cultivo celular ha permitido replicar características específicas del sistema nervioso humano. Por ejemplo, se desarrolló un modelo vascularizado mediante el cocultivo de esferoides vasculares y cerebrales generados por hiPSCs.<sup>24</sup> En otro estudio sobre organoides cerebrales se observaron cambios morfológicos y sinápticos en células de microglía tras la exposición a un virus.<sup>25</sup> Además, los modelos microfluídicos permiten el uso de células de pacientes y el monitoreo en tiempo real de la dinámica del cerebro humano, como la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y las fuerzas hemodinámicas, que no son factibles en experimentos en otras especies. Los cortes cerebrales *ex vivo* son otro método valioso para estudiar el tejido cerebral humano, ya que preservan las propiedades *in vivo*, la organización espacial y las complejas redes de diversos tipos de células.<sup>26</sup>

En los últimos años, los sistemas *in vitro* para estudiar el ACV y el sistema nervioso humano han avanzado considerablemente y se han convertido en herramientas atractivas para estudiar la función del cerebro humano y mejorar las estrategias de tratamiento del ACV.<sup>9</sup> Ahora que estas herramientas están disponibles, la comunidad científica debe adoptarlas y las agencias financiadoras deben apoyar este proceso.

## Referencias

1. Organización Panamericana de la Salud. La carga de enfermedades cardiovasculares. Accessed June 2025. <https://www.paho.org/es/enlace/carga-enfermedades-cardiovasculares>
2. Ruscu M, Glavan D, Surugiu R, et al. Pharmacological and stem cell therapy of stroke in animal models: do they accurately reflect the response of humans? *Exp Neurol*. 2024;376:114753. doi:10.1016/j.expneurol.2024.114753
3. Crilly S, Zille M, Kasher PR, Modo M. Editorial: Innovative models of stroke pathology. *Front Neurol*. 2023;14. doi:10.3389/fneur.2023.1266075
4. Van Breedam E, Ponsoerts P. Promising strategies for the development of advanced in vitro models with high predictive power in ischaemic stroke research. *Int J Mol Sci*. 2022;23(13):7140. doi:10.3390/ijms23137140
5. Nikolakopoulou P, Rauti R, Voulgaris D, Shlomy I, Maoz BM, Herland A. Recent progress in translational engineered in vitro models of the central nervous system. *Brain*. 2020;143(11):3181-3213. doi:10.1093/brain/awaa268
6. Sommer CJ. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta Neuropathol*. 2017;133(2):245-261. doi:10.1007/s00401-017-1667-0
7. Krafft PR, Bailey EL, Lekic T, et al. Etiology of stroke and choice of models. *Int J Stroke*. 2012;7(5):398-406. doi:10.1111/j.1747-4949.2012.00838.x
8. Chen ZQ, Mou R, Feng D, Wang Z, Chen G. The role of nitric oxide in stroke. *Med Gas Res*. 2017;7(3):194-203. doi:10.4103/2045-9912.215750
9. Syvänen S, Lindhe O, Palmer M, et al. Species differences in blood-brain barrier transport of three positron emission tomography radioligands with emphasis on P-glycoprotein transport. *Drug Metab Dispos*. 2009;37(3):635-643. doi:10.1124/dmd.108.024745
10. Lin S, Lin Y, Nery JR, et al. Comparison of the transcriptional landscapes between human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(48):17224-17229. doi:10.1073/pnas.1413624111
11. Johnson S, Dwivedi A, Mirza M, McCarthy R, Gilvarry M. A review of the advancements in the in-vitro modelling of acute ischemic stroke and its treatment. *Front Med Technol*. 2022;4. doi:10.3389/fmedt.2022.879074
12. Roth S, Liesz A. Stroke research at the crossroads—where are we heading? *Swiss Med Wkly*. 2016;146:w14329. doi:10.4414/smww.2016.14329
13. Sena ES, Bart van der Warp H, Bath PMW, Howells DW, Macleod MR. Publication bias in reports of animal stroke studies leads to major overstatement of efficacy. *PLoS Biol*. 2010;8(3):e1000344. doi:10.1371/JOURNAL.PBIO.1000344
14. Konduri PR, Marquering HA, van Bavel EE, Hoekstra A, Majaie CBLM, The INSIST Investigators. In-silico trials for treatment of acute ischemic stroke. *Front Neurol*. 2020;11. doi:10.3389/fneur.2020.558125

15. Sarrami-Foroushani A, Lassila T, MacRaid M, et al. In-silico trial of intracranial flow diverters replicates and expands insights from conventional clinical trials. *Nat Commun*. 2021;12(1):3861. doi:10.1038/s41467-021-23998-w
16. KPMG. *In silico* regulatory evidence utilisation within the life science sector. InSilicoUK Pro-Innovation Regulations Network; 2024. doi:10.5281/zenodo.12735158
17. He JQ, Sussman ES, Steinberg GK. Revisiting stem cell-based clinical trials for ischemic stroke. *Front Aging Neurosci*. 2020;12. doi:10.3389/fnagi.2020.575990
18. Laskowitz DT, Bennett ER, Durham RJ, et al. Allogeneic umbilical cord blood infusion for adults with ischemic stroke: clinical outcomes from a phase I safety study. *Stem Cells Transl Med*. 2018;7(7):521-529. doi:10.1002/sctm.18-0008
19. Boncraglio GB, Ranieri M, Bersano A, Parati EA, Giovane CD. Stem cell transplantation for ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;2019(5):CD007231.
20. Giorgi C, Castelli V, d'Angelo M, Cimini A. Organoids modeling stroke in a petri dish. *Biomedicines*. 2024;12(4):877. doi:10.3390/biomedicines12040877
21. Shakeri A, Wang Y, Zhao Y, et al. Engineering organ-on-a-chip systems for vascular diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2023;43(12):2241-2255. doi:10.1161/ATVBAHA.123.318233
22. Kofman S, Mohan N, Sun X, Ibric L, Piermarini E, Qiang L. Human mini brains and spinal cords in a dish: modeling strategies, current challenges, and prospective advances. *J Tissue Eng*. 2022;13:2041731422113391. doi:10.1177/2041731422113391
23. Jochumsen M, Janjua TAM, Arceo JC, Lauber J, Buessinger ES, Käselner RL. Induction of neural plasticity using a low-cost open source brain-computer interface and a 3D-printed wrist exoskeleton. *Sensors (Basel)*. 2021;21(2):572. doi:10.3390/s21020572
24. Kook MG, Lee SE, Shin N, et al. Generation of cortical brain organoid with vascularization by assembling with vascular spheroid. *Int J Stem Cells*. 2022;15(1):85-94.
25. Xu R, Boreland AJ, Li X, et al. Developing human pluripotent stem cell-based cerebral organoids with a controllable microglia ratio for modeling brain development and pathology. *Stem Cell Rep*. 2021;16(8):1923-1937. doi:10.1016/j.stemcr.2021.06.011
26. National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. Research round-up: replacing animals in stroke research. [www.nc3rs.org.uk/news/research-round-replacing-animals-stroke-research](https://www.nc3rs.org.uk/news/research-round-replacing-animals-stroke-research). Accessed October 14, 2024. https://nc3rs.org.uk/news/research-round-replacing-animals-stroke-research

## Trastorno por uso de sustancias

Las características fundamentales de los animales no humanos los hacen inadecuados para el estudio de trastornos por uso de sustancias (TUS). En primer lugar, el uso y la dependencia de las drogas en humanos son experiencias enormemente complejas que han sido imposibles de imitar en animales en un entorno de laboratorio.<sup>1</sup> Se ha argumentado que los intentos de modelar trastornos humanos como la adicción en animales no humanos, especialmente roedores, son “demasiado ambiciosos” y que la “validez” de dichos modelos suele limitarse a similitudes superficiales, denominadas ‘validez aparente’, que reflejan fenómenos y procesos biológicos subyacentes bastante diferentes de la situación clínica.<sup>2</sup>

[L]os modelos animales no pueden captar muchos aspectos clave de los trastornos cerebrales humanos que pueden ser causados por un TUS y suelen implicar la interacción de factores genéticos, de desarrollo y ambientales... Además, el estudio del cerebro en animales vivos implica técnicas invasivas que pueden afectar la salud y el comportamiento de los sujetos, confundiendo potencialmente los resultados... En consecuencia, es difícil extrapolar los resultados de la investigación a partir de modelos animales a tratamientos clínicos eficaces para los TUS debido a las diferencias... en los sistemas neurológicos entre los humanos y los modelos animales.<sup>3</sup>

Varios criterios diagnósticos del TUS son imposibles de modelar en animales, ya que requieren que el individuo autoinforme. Entre estos se incluyen “(i) el deseo subjetivo, (ii) tomar la sustancia en cantidades mayores o durante más tiempo de lo previsto y (iii) querer abandonar o reducir el uso de sustancias, pero no poder hacerlo”.<sup>4</sup>

En segundo lugar, las acciones farmacocinéticas de las drogas difieren entre especies. Por ejemplo, “el metabolismo de la MDMA y sus principales metabolitos es más lento en humanos que en ratas o monos, lo que podría permitir que los mecanismos neuroprotectores endógenos funcionen de forma específica para cada especie”.<sup>5</sup> Las diferencias farmacocinéticas entre los humanos y los animales “modelo” probablemente explican por qué la neurotoxicidad observada en roedores tras la administración de MDMA no se ha observado en el ámbito clínico.<sup>5</sup> Dado que la MDMA se está estudiando no solo por su uso ilegal como droga recreativa, sino por su posible uso terapéutico, es imprescindible conocer con exactitud su seguridad en humanos.

En tercer lugar, las graves fallas en el diseño de los experimentos de uso de sustancias en animales sesgan la interpretación de sus resultados. A diferencia de los humanos, cuya experiencia con el TUS está determinada principalmente por la decisión individual de consumir una sustancia adictiva –a menudo, frente a otras alternativas gratificantes–, los animales confinados en laboratorios no suelen tener esta opción. Cuando la tienen, la mayoría elige una recompensa alternativa, como azúcar, en lugar de la droga.<sup>6</sup> Esto es válido tanto para primates como para ratones y ratas. Incluso entre los animales con un historial de consumo excesivo de drogas, solo alrededor del 10% sigue autoadministrándose la droga cuando se le presenta otra opción gratificante.<sup>7</sup> Un análisis sobre la “crisis de validación” de los modelos animales de drogadicción concluyó que no ofrecerles a los animales la posibilidad de elegir en estos experimentos plantea “serias dudas” sobre “la interpretación del uso de drogas en animales de experimentación”.<sup>6</sup>

El animal no humano ha sido calificado como el “colaborador más reacio” al estudiar el trastorno por consumo de alcohol, y se ha observado que tiene una “sobriedad con determinación” contra la que el experimentador debe luchar para superar “su fracaso constante a la hora de reproducir el consumo voluntario de etanol hasta el punto de la dependencia física”.<sup>7</sup> Los investigadores del Instituto Nacional de Salud Mental de EE. UU. señalan que “es difícil argumentar que [la autoadministración de drogas por parte de roedores] modela realmente la compulsión, cuando la alternativa a la autoadministración es la soledad en una jaula del tamaño de una caja de zapatos”.<sup>8</sup>

A pesar de la gravedad del fenómeno de drogodependencia y sobredosis y de la prevalencia de la investigación sobre el TUS realizada en animales, las opciones de tratamiento disponibles para las personas adictas a los opiáceos, la nicotina y el alcohol son limitadas, y no existen tratamientos aprobados para los

consumidores de marihuana o estimulantes, ni para aquellos que usan múltiples sustancias.<sup>9</sup> El Instituto Nacional sobre el Abuso de Drogas de EE. UU. ha señalado que las empresas farmacéuticas muestran poco interés en invertir en tratamientos para el TUS debido al estigma y la complejidad de la enfermedad.<sup>9,10</sup> Aunque los datos de los estudios en animales fueron considerados prometedores para ciertas clases de drogas y para prevenir recaídas, la mayoría de estos ha fracasado en los ensayos en humanos o no han sido bien tolerados por los participantes.<sup>4,10</sup> Algunos investigadores sostienen que “estos fracasos demuestran la incapacidad de los modelos animales para captar la compleja naturaleza de la adicción y su tratamiento”, y que “los hallazgos de los modelos animales de adicción han generado una percepción engañosa de la naturaleza de la conducta adictiva en humanos”.<sup>4</sup>

Los métodos de investigación no invasivos y basados en la biología humana están proporcionando respuestas a preguntas que son imposibles de resolver por medio de experimentos en animales. Investigadores de la Universidad Rutgers publicaron recientemente un artículo en el que señalan que el uso de hiPSC puede ofrecer una “oportunidad única para modelar trastornos neuropsiquiátricos como [los trastornos por consumo de alcohol] de una forma que... refleja fielmente los complejos contextos genéticos humanos. Las células neuronales específicas de cada paciente derivadas de células [madre pluripotentes inducidas] pueden usarse para el descubrimiento de fármacos y la medicina de precisión”.<sup>11</sup>

Estos son ejemplos de investigaciones innovadoras, sin animales y relevantes para los humanos:

- Se están usando muestras humanas *post mortem* para modelar los cambios inducidos por el TUS en el cerebro y las células cerebrales. Por ejemplo, en el Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad de Texas y en la Escuela de Medicina Baylor se creó un novedoso modelo hiPSC de células progenitoras neuronales y neuronas a partir de células de piel humana *post mortem*, y se comparó directamente con tejido cerebral de los mismos donantes para modelar los cambios cerebrales inducidos por opiáceos.<sup>12</sup>
- Un equipo de la Universidad de Heidelberg realizó un estudio epigenómico de tejido cerebral *post mortem* de individuos con trastorno por uso de cocaína para comprender cómo este trastorno altera la señalización sináptica y la neuroplasticidad.<sup>13</sup>
- En la Universidad de Pensilvania se usaron conjuntos de datos genómicos en 3D para secuenciar más de 50 tipos de células humanas e identificar blancos genéticos y celulares subyacentes al TUS.<sup>14</sup>
- Como parte del Programa Un Millón de Veteranos, un equipo estadounidense realizó un estudio multiómico con biología de sistemas para revelar blancos genéticos clave para desarrollar nuevos medicamentos para tratar el trastorno por uso de opiáceos.<sup>15</sup>
- En la Universidad de Florida Central desarrollaron un modelo de hiPSC para estudiar el trastorno por uso de opiáceos y la

depresión respiratoria que estos inducen, y combatir la crisis de sobredosis de estas sustancias.<sup>16</sup>

- En la Universidad Estatal de Carolina del Norte cocultivaron neuronas humanas para formar ensamblados y entender las respuestas moleculares a la cocaína y la morfina en las células humanas.<sup>17</sup> Los ensamblados y organoides derivados de humanos “muestran un potencial único para recapitular la respuesta a sustancias de un cerebro humano en desarrollo”<sup>18</sup> y también serán útiles para estudiar la exposición a drogas en el útero.
- La investigación sobre las mejores formas de tratar el dolor humano es crucial para reducir la incidencia de los trastornos por uso de opiáceos y las recaídas. En Queen’s University Belfast usaron modelos neuronales humanos *in vitro* e *in vivo* para estudiar las bases moleculares de la modulación de la nocicepción en los nervios periféricos humanos.<sup>18</sup> Empresas biotecnológicas como AxoSim y NETRI, entre otras, han desarrollado modelos neuronales humanos *in vitro* que pueden usarse para la investigación del dolor en humanos.

Los recursos que actualmente se desperdician en el financiamiento de estudios ineficaces sobre el TUS en animales podrían, en su lugar, usarse para apoyar programas eficaces de prevención del uso de drogas, rehabilitación y salud mental.

## Referencias

1. Tzschentke TM. Where do we stand in the field of anti-abuse drug discovery? *Expert Opin Drug Discov.* 2014;9(11):1255-1258. doi:10.1517/17460441.2014.948415
2. Stephens DN, Crombag HS, Duka T. The challenge of studying parallel behaviors in humans and animal models. In: Sommer WH, Spanagel R, eds. *Behavioral Neurobiology of Alcohol Addiction*. Springer; 2013:611-645. doi:10.1007/978-3-642-28720-6\_133
3. Li K, Gu L, Cai H, Lu HC, Mackie K, Guo F. Human brain organoids for understanding substance use disorders. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2024;58:101036. doi:10.1016/j.dmpk.2024.101036
4. Field M, Kersbergen I. Are animal models of addiction useful? *Addiction.* 2020;115(11):6-12. doi:10.1111/add.14764
5. Green AR, King MV, Shortall SE, Fone KCF. Lost in translation: preclinical studies on 3,4-methylenedioxymethamphetamine provide information on mechanisms of action, but do not allow accurate prediction of adverse events in humans. *Br J Pharmacol.* 2012;166(5):1523-1536. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01819.x
6. Ahmed SH. Validation crisis in animal models of drug addiction: beyond non-disordered drug use toward drug addiction. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010;35(2):172-184. doi:10.1016/j.neubiorev.2010.04.005
7. Ramsden E. Making animals alcoholic: shifting laboratory models of addiction. *J Hist Behav Sci.* 2015;51(2):164-194. doi:10.1002/jhbs.21715
8. Hyman SE, Malenka RC. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci.* 2001;2(10):695-703. doi:10.1038/35094560
9. Whitten A. Developing new drugs to treat addiction. *Drug Discovery News.* September 3, 2024. Accessed December 3, 2024. <https://www.drugdiscoverynews.com/developing-new-drugs-to-treat-addiction-16033>
10. Montoya ID, Volkow ND. IUPHAR Review: New strategies for medications to treat substance use disorders. *Pharmacol Res.* 2024;200:107078. doi:10.1016/j.phrs.2024.107078
11. Scarnati MS, Halikere A, Pang ZP. Using human stem cells as a model system to understand the neural mechanisms of alcohol use disorders: current status and outlook. *Alcohol.* 2019;74:83-93. doi:10.1016/j.alcohol.2018.03.008
12. Mendez EF, Grimm SL, Stertz L, et al. A human stem cell-derived neuronal model of morphine exposure reflects brain dysregulation in opioid use disorder: transcriptomic and epigenetic characterization of postmortem-derived iPSC neurons. *Front Psychiatry.* 2023;14. doi:10.3389/fpsy.2023.1070556
13. Poisel E, Zillich L, Streit F, et al. DNA methylation in cocaine use disorder—an epigenome-wide approach in the human prefrontal cortex. *Front Psychiatry.* 2023;14. doi:10.3389/fpsy.2023.1075250
14. Trang KB, Chesi A, Toikuma S, et al. Shared and unique 3D genomic features of substance use disorders across multiple cell types. *medRxiv.* Preprint posted online July 19, 2024. doi:10.1101/2024.07.18.24310649
15. Sullivan KA, Kainer D, Lane M, et al. Multi-omic network analysis identifies dysregulated neurobiological pathways in opioid addiction. *Biol Psychiatry.* 2024;[24]. doi:10.1016/j.biopsych.2024.11.013
16. Guo X, Akanda N, Fiorino G, et al. Human iPSC-derived PreBötC-like neurons and development of an opiate overdose and recovery model. *Adv Biol (Weinb).* 2024;8(8):2300276. doi:10.1002/adbi.202300276

17. Rudibaugh TP, Tam RW, Estridge RC, Stuppy SR, Keung AJ. Single-cell assessment of human stem cell-derived mesolimbic models and their responses to substances of abuse. *Organoids.* 2024;3(2):126-147. doi:10.3390/organoids3020009
18. McMillan H, Lundy FT, Dunne OM, et al. Endogenous Mas-related G-protein-coupled receptor X1 activates and sensitizes TRPA1 in a human model of peripheral nerves. *FASEB J.* 2021;35(5):e21492. doi:10.1096/fj.202001667RR

## Salud de la mujer

Además de los problemas de salud que las mujeres enfrentan independientemente de su sexo o género, hay condiciones relacionadas de forma estrecha con el ciclo reproductivo que pueden variar a lo largo de la vida.<sup>1</sup> Aunque requieren atención urgente, la infertilidad, la endometriosis, la adenomiosis y los síntomas de la menopausia se han estudiado poco y la financiación en estas áreas de investigación ha sido insuficiente.<sup>2</sup>

Un obstáculo importante en el uso de otras especies para estudiar la salud de la mujer es la anatomía del aparato reproductor. Por ejemplo, los ratones tienen un sistema reproductor cerrado con oviductos enrollados firmemente que se abren hacia el espacio de la bolsa ovárica. En cambio, el aparato reproductor humano se abre hacia la cavidad peritoneal. Esto permite que las células endometriales que se desprenden durante la menstruación fluyan hacia atrás (menstruación retrógrada) hasta la cavidad peritoneal. Esta menstruación retrógrada está relacionada con la aparición y los síntomas de la endometriosis. “[D]esde una perspectiva morfológica, el desarrollo del conducto de Müller difiere sustancialmente entre ratones y humanos”<sup>3</sup> lo cual resulta en las trompas de Falopio en humanos y en la vagina de Müller en ratones.

La endometriosis y la adenomiosis están estrechamente relacionadas, causan dolor pélvico, abortos espontáneos e infertilidad y afectan a alrededor del 10% de las mujeres.<sup>4-6</sup> A pesar de haberse descrito por primera vez hace siglos, las importantes lagunas en el diagnóstico y el tratamiento de estas afecciones se deben a la comprensión limitada de los mecanismos subyacentes<sup>5</sup> que se han investigado en modelos animales fallidos.



Las lesiones propias de la endometriosis humana, que aún no están completamente caracterizadas, varían de forma significativa en ubicación, tamaño, color y profundidad.<sup>7</sup> Además, estas lesiones tienen etiologías distintas que son imposibles de reproducir por completo en modelos animales, y el intento de imitarlas requiere métodos invasivos como injertos quirúrgicos e inyecciones intraperitoneales o de tejido aplicadas en el endometrio.<sup>7,8</sup> Estos métodos artificiales suelen causar contaminación celular con tejido no uterino e inflamación local en los animales.<sup>9</sup> Los modelos de ratón transgénico *de novo* rara vez logran reproducir la endometriosis con éxito debido a los fenotipos letales comúnmente asociados con la eliminación de genes esenciales.<sup>8</sup> Además, el largo período de latencia necesario para que se desarrolle la endometriosis –algo inalcanzable en especies de vida corta como los ratones– pone de manifiesto las limitaciones fundamentales de los modelos animales.

El proceso de la menopausia y los síntomas asociados varían mucho de una mujer a otra y dependen de factores como la cantidad de óvulos restantes en los ovarios, el estilo de vida, la alimentación y el origen étnico.<sup>10-12</sup> Las fluctuaciones en los niveles de estradiol durante la fase perimenopáusica pueden causar cambios fisiológicos, conductuales y neurológicos específicos, complejos y prolongados<sup>10</sup> que los experimentos en animales no pueden replicar.

El ciclo estral de otros primates y roedores difiere de forma considerable del ciclo menstrual humano.<sup>13</sup> La gran mayoría de los animales no humanos no atraviesa la menopausia y sus patrones de fertilidad discrepan de forma significativa en comparación con los humanos. La fertilidad de los ratones empieza a disminuir a los 8 meses de vida,<sup>14</sup> o cerca de una sexta parte de su longevidad potencial. En comparación con los humanos, el ciclo menstrual de otros primates y roedores varía en duración, fluctuación hormonal y las formas en que estas hormonas regulan el eje hipotálamico-hipofisario-gonadal.<sup>13,15,16</sup>

Dadas las numerosas limitaciones biológicas descritas anteriormente, los experimentadores intentan reproducir la menopausia y las lesiones uterinas en animales mediante métodos artificiales. La ovariectomía, o la extirpación quirúrgica de los ovarios, es el método estándar para crear estos síntomas en animales, pero el procedimiento es invasivo y clínicamente irrelevante para inducir la menopausia. La menopausia es una transición gradual (no un acontecimiento abrupto) y los animales no experimentan los mismos síntomas que los humanos, como la niebla mental o la liberación continua de andrógenos por parte de los ovarios.<sup>17</sup> Otros modelos animales creados mediante la inducción química de la falla ovárica prematura pueden resultar en factores de confusión experimental, como discrepancias relacionadas con la dosis y la duración del tratamiento, el desarrollo de problemas neurológicos no relacionados<sup>18</sup> y la incapacidad de modelar respuestas a medicamentos que pueden revertir el fallo ovárico prematuro en humanos.<sup>19</sup>

En la mayoría de los experimentos se usan animales jóvenes, como monos tití de corta edad, cuya fisiología difiere drásticamente de la de los humanos en proceso de envejecimiento, a los que se pretende imitar. Los patrones genéticos del cerebro de estos animales no coinciden con los de los humanos en la transición menopáusica, lo que significa que no pueden replicar el deterioro cognoscitivo asociado con la fluctuación y la pérdida de estrógeno durante este período.<sup>20</sup>

Para diseñar intervenciones más eficaces, es esencial comprender mejor los mecanismos biológicos humanos específicos que afectan la salud de la mujer y financiar las herramientas necesarias para esta investigación crucial y, a menudo, ignorada.

El trabajo colectivo para la caracterización fenotípica de lesiones endometriales humanas y su almacenamiento en biobancos,<sup>21,22</sup> combinado con herramientas de aprendizaje automático que analizan datos de pacientes y dispositivos portátiles para identificar posibles factores de riesgo, puede generar datos que históricamente han sido difíciles de replicar mediante modelos *in vitro* más sencillos. Por ejemplo, se ha desarrollado un modelo predictivo unificado para el diagnóstico de la endometriosis a través de un conjunto de datos de más de 5000 mujeres. El modelo analizó más de 1000 variables, entre ellas el estilo de vida, las variantes genéticas y los antecedentes médicos.<sup>23</sup>

Las limitaciones de los experimentos en animales y los modelos *in vitro* tradicionales han impulsado el desarrollo de plataformas microfluídicas avanzadas que recapitulan con precisión el sistema reproductor humano,<sup>24</sup> por ejemplo, la placenta humana en chip, que permite el estudio de la interfaz materno-fetal y las afecciones relacionadas con el embarazo,<sup>25-27</sup> y protocolos estandarizados de hiPSC.<sup>28</sup> Otro modelo multicelular vascularizado imita con eficacia las fluctuaciones hormonales del ciclo menstrual humano,<sup>29</sup> lo que permite estudiar la permeabilidad del endometrio a los anticonceptivos y sirve como prueba de concepto para estudiar la implantación del embrión humano, que es imposible de reproducir en modelos animales. Los datos ultrasonográficos se han usado para construir un endometrio bioimpreso en 3D y diagnosticar anomalías uterinas congénitas.<sup>30</sup> Recientemente, se ha publicado el *Human Endometrial Cell Atlas* como una nueva referencia para estudiar la transcriptómica endometrial y guiar el desarrollo de sistemas humanos *in vitro*.<sup>31</sup>

Destinar recursos a mejorar el servicio de salud en lugar de financiar modelos animales imprecisos tendría un gran impacto en las personas que requieren atención. Un estudio reciente concluyó que la interpretación errónea de los síntomas de la endometriosis contribuye en gran medida a retrasar su diagnóstico y propuso un enfoque integral que incluya capacitar a los médicos, ofrecer cursos especializados para estudiantes de medicina e integrar a otros profesionales de la salud en los procesos de diagnóstico y atención médica.<sup>32</sup>

El ciclo menstrual humano y el endometrio son dinámicos y únicos en cada individuo, lo que subraya la necesidad de priorizar enfoques personalizados mediante modelos derivados de pacientes. Los métodos sin animales pueden revolucionar la investigación sobre la salud de la mujer, ya que brindan modelos más precisos para estudiar enfermedades, evaluar medicamentos y desarrollar intervenciones con medicina de precisión.

## Referencias

1. Mayo Clinic Staff. Women's health. Mayo Clinic. September 28, 2022. Accessed October 9, 2024. <https://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/womens-health/basics/womens-health/hiv-2004941>
2. Carneiro MM. Women's health in 2024: change now for tomorrow will be too late. *Women & Health*. 2024;64(1):1-4. doi:10.1080/03630242.2024.2292320
3. Cunha GR, Sinclair A, Rieke WA, Robbay SJ, Cao M, Baskin LS. Reproductive tract biology: of mice and men. *Differentiation*. 2019;110:49-63. doi:10.1016/j.diff.2019.07.004
4. Vercellini P, Viganò P, Bandini V, Buggio L, Berlanda N, Somigliana E. Association of endometriosis and adenomyosis with pregnancy and infertility. *Fertil Steril*. 2023;119(5):727-740. doi:10.1016/j.fertnstert.2023.03.018
5. Smolarz B, Szytlo K, Romanowicz H. Endometriosis: epidemiology, classification, pathogenesis, treatment and genetics (review of literature). *Int J Mol Sci*. 2021;22(19):10554. doi:10.3390/ijms221910554
6. World Health Organization. Endometriosis. WHO.int. March 24, 2023. Accessed October 9, 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/endometriosis>
7. Burns KA, Pearson AM, Slack JL, et al. Endometriosis in the mouse: challenges and progress toward a 'best fit' murine model. *Front Physiol*. 2022;12. Accessed January 17, 2024. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.806574>
8. Zhao Y, Wang Y, Gu P, Tuo L, Wang L, Jiang SW. Transgenic mice applications in the study of endometriosis pathogenesis. *Front Cell Dev Biol*. 2024;12. doi:10.3389/fcell.2024.1376414
9. Feng D, Menger MD, Wang H, Laschke MW. Luminal epithelium in endometrial fragments affects their vascularization, growth and morphological development into endometriosis-like lesions in mice. *Dis Model Mech*. 2014;7(2):225-232. doi:10.1242/dmm.013664
10. Chalouhi S. Menopause: A complex and controversial journey. *Post Reprod Health*. 2017;23(3):128-131. doi:10.1177/205336911711346
11. Bansal R, Aggarwal N. Menopausal hot flashes: a concise review. *J Midlife Health*. 2019;10(1):6. doi:10.4103/jmh.JMH\_7\_19
12. Todorova L, Bonassi R, Guerrero Carreño FJ, et al. Prevalence and impact of vasomotor symptoms due to menopause among women in Brazil, Canada, Mexico, and Nordic Europe: a cross-sectional survey. *Menopause*. 2023;30(12):1179. doi:10.1097/GME.0000000000002265
13. Acevedo-Rodríguez A, Kauffman AS, Cherrington BD, Borges CS, Roepke TA, Laconi M. Emerging insights into hypothalamic-pituitary-gonadal axis regulation and interaction with stress signalling. *J Neuroendocrinol*. 2018;30(10):e12590. doi:10.1111/jne.12590
14. Zhang Z, He C, Gao Y, et al.  $\alpha$ -ketoglutarate delays age-related fertility decline in mammals. *Aging Cell*. 2021;20(2):e13291. doi:10.1111/acel.13291
15. Koebele SV, Bimonte-Nelson HA. Modeling menopause: the utility of rodents in translational behavioral endocrinology research. *Maturitas*. 2016;87:5-17. doi:10.1016/j.maturitas.2016.01.015
16. Wood BM, Negrey JD, Brown JL, et al. Demographic and hormonal evidence for menopause in wild chimpanzees. *Science*. 2023;382(6669):ead45473. doi:10.1126/science.ead45473
17. Whitton K, Baber R. Androgen-based therapies in women. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2024;38(1):101783. doi:10.1016/j.beem.2023.101783
18. Cao LB, Leung CK, Law PWN, et al. Systemic changes in a mouse model of VCD-induced premature ovarian failure. *Life Sci*. 2020;262:118543. doi:10.1016/j.lfs.2020.118543
19. Lee EH, Han SE, Park MJ, et al. Establishment of effective mouse model of premature ovarian failure considering treatment duration of anticancer drugs and natural recovery time. *J Menopausal Med*. 2018;24(3):196-203. doi:10.6118/jmm.2018.24.3.196
20. Russell JK, Jones CK, Newhouse PA. The role of estrogen in brain and cognitive aging. *Neurotherapeutics*. 2019;16(3):649-665. doi:10.1007/s13311-019-00766-9
21. Calón-Caraballo M, García M, Mendoza A, Flores I. Human endometriosis tissue microarray reveals site-specific expression of estrogen receptors, progesterone receptor, and Ki67. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(7):491-500. doi:10.1097/PAI.0000000000000663
22. Becker CM, Laufer MR, Stratton P, et al. World Endometriosis Research Foundation Endometriosis Phenome and Biobanking Harmonisation Project: I. Surgical phenotype data collection in endometriosis research. *Fertil Steril*. 2014;102(5). doi:10.1016/j.fertnstert.2014.07.079
23. Bloss I, Sahar T, Shraibman A, Ofer D, Rappoport N, Liniat M. Revisiting the risk factors for endometriosis: a machine learning approach. *J Pers Med*. 2022;12(7):1114. doi:10.3390/jpm12071114
24. Deng ZM, Dai FF, Wang RQ, et al. Organ-on-a-chip: future of female reproductive pathophysiological models. *J Nanobiotechnology*. 2024;22(1):455. doi:10.1186/s12951-024-02651-w
25. Blundell C, Tess ER, Schanzer ASR, et al. A microphysiological model of the human placental barrier. *Lab Chip*. 2016;16(16):3065-3073. doi:10.1039/c6lc00259e

26. Ghorbanpour SM, Richards C, Pienaar D, et al. A placenta-on-a-chip model to determine the regulation of FKBPL and galectin-3 in preeclampsia. *Cell Mol Life Sci*. 2023;80(2):44. doi:10.1007/s00018-022-04648-w
27. Lee JS, Romero R, Han YM, et al. Placenta-on-a-chip: a novel platform to study the biology of the human placenta. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(7):1046-1054. doi:10.3109/14767058.2015.1038518
28. Lermant A, Robussier G, Davidson L, Lanz HL, Murdoch CE. Protocol for a placenta-on-a-chip model using trophoblasts differentiated from human induced pluripotent stem cells. *STAR Protoc*. 2024;5(1):102879. doi:10.1016/j.xpro.2024.102879
29. Ahn J, Yoon MJ, Hong SH, et al. Three-dimensional microengineered vascularised endometrium-on-a-chip. *Hum Reprod*. 2021;36(10):2720-2731. doi:10.1093/humrep/deab186
30. Wang L, Chen XJ, Liang JH, Zhang ZK, Cao TS, Zhang L. Preliminary application of three-dimensional printing in congenital uterine anomalies based on three-dimensional transvaginal ultrasonographic data. *BMC Women's Health*. 2022;22(1):290. doi:10.1186/s12905-022-01873-0
31. Marečková M, Garcia-Alonso L, Moullet M, et al. An integrated single-cell reference atlas of the human endometrium. *Nat Genet*. 2024;56(9):1925-1937. doi:10.1038/s41588-024-01873-w
32. Lukac S, Hancke K, Janni W, et al. Three-dimensional model for improvement of endometriosis care (3D-E). *Int J Gynaecol Obstet*. 2024;165(2):416-423. doi:10.1002/ijgo.15165

## Xenotrasplantes

A medida que crece la demanda de órganos, la idea alguna vez experimental de usar animales para trasplantes se ha convertido en una polémica apuesta por reproducir cerdos exclusivamente para la extracción de órganos, una práctica conocida como xenotrasplante. Existen múltiples formas de mejorar nuestro sistema actual para aumentar el acceso a órganos humanos viables sin xenotrasplantes.

De acuerdo con la Red Unida para Compartir Órganos de EE. UU. (UNOS), a junio de 2025, cerca de 106 mil personas en dicho país esperaban un trasplante.<sup>1</sup> En 2024, en México hubo cerca de 20 mil personas en lista de espera para un trasplante,<sup>15</sup> y en Colombia hubo más de 4000.<sup>16</sup> A pesar de esta enorme y urgente necesidad, el sistema actual de gestión, extracción y transporte de órganos humanos es muy ineficiente. Los órganos humanos siguen siendo la opción más compatible y eficaz para los trasplantes, pero las ineficiencias del sistema hacen que se desechen muchos órganos viables. En lugar de recurrir a la ingeniería genética, la reproducción y el asesinato de cerdos para la extracción de órganos, habría que centrarse en perfeccionar los sistemas de obtención y trasplante de órganos en cada país. La creación de una red independiente de xenotrasplantes exigiría mecanismos públicos de supervisión y financiación considerables, lo que haría más complejo e ineficiente un sistema ya problemático. En su lugar, la solución más responsable y eficaz consiste en reforzar el proceso de donación de órganos humanos para garantizar que los pacientes reciban las mejores opciones posibles de trasplante.

En EE. UU., la UNOS, que hasta hace poco era la única organización que gestionaba la obtención y el trasplante de órganos, ha enfrentado críticas por mala gestión durante décadas. En 2022, una investigación de la Comisión de Finanzas del Senado de EE. UU. reveló que, con frecuencia, los órganos obtenidos por la UNOS se perdían, dañaban, retrasaban o nunca se recogían.<sup>2</sup> Un informe del mismo año, realizado por las Academias Nacionales de Ciencias, Ingeniería y Medicina de EE. UU., concluyó que el sistema de trasplantes de órganos en ese país es ineficaz, desigual e inconsistente y requiere mejoras significativas.<sup>3</sup> Por ejemplo, en 2022, uno de cada cinco riñones y uno de cada diez hígados

donados nunca se trasplantaron debido a estos problemas sistémicos.<sup>4</sup>

Además, el sistema actual de EE. UU. suele desperdiciar órganos ya disponibles. Un estudio de los trasplantes de riñón entre 2000 y 2015 encontró que, en casi 8000 casos, se utilizó un riñón del donante mientras que el otro se descartó, a menudo, debido a pequeñas diferencias con respecto a los criterios ideales de donación.<sup>5</sup> Estos riñones descartados probablemente funcionarían bien, en particular si se comparan con la diálisis a largo plazo.<sup>6</sup> De acuerdo con Dalvin Roth, profesor de Stanford y Premio Nobel por su trabajo en programas de intercambio de riñones, los centros de trasplantes se ven presionados para rechazar riñones porque se les penaliza por trasplantes fallidos.<sup>6</sup> Sin embargo, los centros de trasplantes no son penalizados por rechazar riñones.<sup>6</sup> Este sistema perpetúa la escasez de órganos, ya que los riñones rechazados pueden no alcanzar un umbral poco realista. Teniendo en cuenta que la morbilidad y la mortalidad de la diálisis de larga duración son significativas, los trasplantes ofrecen muchas más ventajas a los pacientes.<sup>6</sup> Reformar estos criterios podría aumentar considerablemente el número de riñones disponibles, entre otros órganos.

Como respuesta a esto, en 2023 se aprobó la ley para garantizar la red de obtención y trasplante de órganos (*Securing the U.S. Organ Procurement and Transplantation Network Act*) para modernizar el sistema nacional de trasplantes.<sup>7</sup> Esta legislación pretende garantizar que los pacientes reciban órganos humanos de alta calidad,<sup>7</sup> en contraste con los órganos animales, que plantean riesgos de rechazo, infecciones zoonóticas y problemas éticos. Asimismo, en agosto de 2024, se anunció que la instancia que rige la política nacional de asignación de órganos se constituiría por separado y sería independiente de la UNOS,<sup>8</sup> un paso fundamental para mejorar la eficiencia. Sin embargo, ya que los órganos humanos siguen siendo la mejor opción para las personas que necesitan un trasplante, se debe hacer mucho más para ampliar y mejorar el sistema para su obtención y trasplante.

Los xenotrasplantes implican riesgos adicionales, como la transmisión de patógenos de animales a humanos, un fenómeno conocido como zoonosis. La FDA ha reconocido que se trata de un riesgo importante, sobre todo para los pacientes trasplantados que están inherente y médicamente inmunodeprimidos.<sup>9</sup> Estas infecciones podrían propagarse a los contactos cercanos y a la comunidad en general, lo que plantea un dilema ético entre el deber de proteger la salud pública y la necesidad de proporcionar trasplantes de órganos a pacientes con insuficiencia terminal.<sup>10</sup> A pesar de someter a los animales a ingeniería genética, de reproducirlos en instalaciones sin agentes patógenos y de practicarles pruebas para su detección, se han identificado el citomegalovirus y el roseolovirus porcinos, incluso después de la evaluación previa al trasplante.<sup>10</sup> En mayo de 2022, el receptor de un trasplante de corazón de cerdo falleció dos meses después de su operación.<sup>11</sup> La autopsia reveló que el corazón del

cerdo era portador de citomegalovirus porcino no detectado y pudo haber contribuido a una muerte imprevista y prematura en un individuo inmunodeprimido.<sup>11</sup> En septiembre de 2025, había dos personas vivas que habían recibido un xenotrasplante, pero solo una de ellas conservaba el órgano trasplantado. A esta última se le retiró el órgano en octubre de 2025.<sup>21</sup> Todas las demás personas que han recibido un xenotrasplante han fallecido.<sup>12</sup> Esto resalta la inutilidad de la práctica y refleja el hecho de que solo se han seleccionado pacientes de alto riesgo para recibir este peligroso tratamiento experimental. Los riesgos de los xenotrasplantes son elevados en comparación con los trasplantes de órganos humanos, que, cuando se gestionan con eficiencia, siguen siendo la solución más segura y efectiva.

En lugar de confiar en los xenotrasplantes para resolver la escasez de órganos, los países deberían implementar políticas para aumentar la disponibilidad de órganos humanos. Por ejemplo, un estudio publicado en 2019 sugiere adoptar una política de “consentimiento presunto”, donde la donación de órganos es el “valor por defecto”, a menos que los individuos opten por no hacerlo, una práctica que ya ha aumentado las tasas de donación en países como Austria, Bélgica<sup>13</sup> y España. En América Latina, el sistema de donación presunta existe en Argentina,<sup>17</sup> Chile,<sup>18</sup> Perú<sup>19</sup> y Uruguay.<sup>20</sup>

Adicionalmente, se pueden aplicar enfoques similares a los de los países europeos, que priorizan un amplio acceso a los órganos humanos y maximizan la eficiencia de sus sistemas de donación y trasplante.<sup>14</sup> Su éxito se debe al compromiso del gobierno con un proceso de donación con exclusión voluntaria, al fomento de una cultura de confianza en el sistema y al establecimiento de instituciones especializadas en múltiples niveles.<sup>14</sup> Además, un reembolso hospitalario adecuado garantiza que las barreras financieras no impidan la participación.<sup>14</sup> Estas medidas amplían el acceso a los órganos humanos y mejoran la eficiencia del sistema de trasplantes. Con un compromiso para mejorar los sistemas de donación de órganos, los legisladores de cada país pueden aumentar el acceso a órganos humanos que salvan vidas sin recurrir a los xenotrasplantes, una práctica arriesgada, innecesaria y con serias limitaciones éticas.

## Referencias

1. United Network for Organ Sharing. Data and trends. October 15, 2024. Accessed October 15, 2024. <https://unos.org/data/>
2. United States Senate Committee on Finance. A system in need of repair: addressing organizational failures of the U.S.'s Organ Procurement and Transplantation Network. August 3, 2022. Accessed October 15, 2024. <https://www.finance.senate.gov/hearings/a-system-in-need-of-repair-addressing-organizational-failures-of-the-uss-organ-procurement-and-transplantation-network>
3. Kizer KW, English RA, Hackmann M, eds. *Realizing the Promise of Equity in the Organ Transplantation System*. National Academies Press; 2022.
4. In America, lots of usable organs go unrecovered or get binned. *The Economist*. September 16, 2023. Accessed October 15, 2024. <https://www.economist.com/united-states/2023/09/16/in-america-lots-of-usable-organs-go-unrecovered-or-get-binned>
5. Mohan S, Chiles MC, Patzer RE, et al. Factors leading to the discard of deceased donor kidneys in the United States. *Kidney Int*. 2018;94(1):187-198.
6. Jena B. Why do so many donated kidneys end up in the trash? *Freakonomics*. November 11, 2021. Accessed October 24, 2024. <https://freakonomics.com/podcast/why-do-so-many-donated-kidneys-end-up-in-the-trash/>



7. Health Resource and Services Administration. Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN) modernization initiative. Updated November 2024. Accessed December 6, 2024. <https://www.hrsa.gov/optn-modernization>
8. U.S. Department of Health and Human Services. In historic step, HRSA makes first ever multi-vendor awards to modernize the nation's organ transplant system and end the current contract monopoly. September 19, 2024. Accessed October 15, 2024. <https://www.hhs.gov/about/news/2024/09/19/hrsa-makes-first-ever-multi-vendor-awards-to-modernize-the-nations-organ-transplant-system.html>
9. FDA Center for Biologics Evaluation and Research. Source animal, product, preclinical, and clinical issues concerning the use of xenotransplantation products in humans. December 2016. Accessed October 15, 2024. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/source-animal-product-preclinical-and-clinical-issues-concerning-use-xenotransplantation-products>
10. Hawthorne WJ. Ethical and legislative advances in xenotransplantation for clinical translation: focusing on cardiac, kidney and islet cell xenotransplantation. *Front Immunol*. 2024;15:1355609.
11. Regalado A. The xenotransplant patient who died received a heart infected with a pig virus. *MIT Technology Review*. May 4, 2022. Accessed October 15, 2024. <https://www.technologyreview.com/2022/05/04/1051725/xenotransplant-patient-died-received-heart-infected-with-pig-virus/>
12. Christensen J. He was tired of just surviving. A pig kidney gave him a shot at living. *CNN*. May 14, 2025. Accessed August 11, 2025. <https://www.cnn.com/2025/05/14/health/xenotransplant-pig-kidney-patient>
13. DeRoos LJ, Marrero WJ, Tapper EB, et al. Estimated association between organ availability and presumed consent in solid organ transplant. *JAMA Netw Open*. 2019;2(10):e1912431.
14. Streit S, Johnston-Webber C, Mah J, et al. Ten lessons from the Spanish model of organ donation and transplantation. *Transpl Int*. 2023;36:11009.
15. Gobierno de México. Estado actual de receptores, donación y trasplantes en México 2024. Accessed June 26, 2025. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/967152/ESTADISTICAS\\_ANUAL\\_2024.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/967152/ESTADISTICAS_ANUAL_2024.pdf)
16. Ministerio de Salud y Protección Social. MinSalud e INS conmemoran el Día Mundial del Donante de Órganos y Tejidos. Accessed June 26, 2025. <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/minsalud-e-ins-conmemoran-el-dia-mundial-del-donante-de-organos-y-tejidos.aspx>
17. Ministerio de Salud. INCUCAI. Accessed June 26, 2025. <https://www.argentina.gob.ar/salud/donarorganos>
18. Instituto de Salud Pública. Lo que tienes que saber sobre la donación de órganos en Chile. Accessed June 26, 2025. <https://www.ispch.gob.cl/noticia/lo-que-tienes-que-saber-sobre-la-donacion-de-organos-en-chile/>
19. Gobierno de Perú. Donación de órganos y tejidos: preguntas frecuentes. Accessed November 14, 2025. <https://www.gob.pe/100384-donacion-de-organos-y-tejidos-preguntas-frecuentes>
20. Gobierno de Uruguay. Expresión de voluntad de donación (positiva o negativa). Accessed June 26, 2025. <https://www.gub.uy/tramites/expresion-voluntad-donacion-positiva-negativa>
21. Neergaard L. 'Medical pioneer' who lived with pig kidney for record 271 days has organ removed and restarts dialysis. *The Independent*. October 27, 2025. Accessed November 14, 2025. <https://www.independent.co.uk/life-style/health-and-families/health-news/pig-kidney-tim-andrews-transplant-organ-removed-b2853257.html>

## EDUCACIÓN MÉDICA

### Formación médica

Los animales se han usado tradicionalmente en la formación médica para enseñar fisiología humana y principios farmacéuticos, estudiar la forma y la función anatómicas humanas y practicar procedimientos quirúrgicos humanos. Sin embargo, numerosos avances han contribuido a un cambio de paradigma en este campo. Entre ellos se incluyen las mejoras en la simulación de pacientes humanos y la tecnología de aprendizaje asistido por computador que enseña estos temas tan bien o mejor que la disección y experimentación en animales;<sup>1,2</sup> el aumento de la oposición pública al uso de animales en laboratorios;<sup>3</sup> el

incremento de los costos asociados con la construcción y el mantenimiento de instalaciones para confinar animales;<sup>4,5</sup> y un renovado interés de la comunidad médica en mejorar la seguridad del paciente y reducir los errores clínicos mediante la capacitación basada en la tecnología de simulación.<sup>6,7</sup>

### Formación médica de pregrado

La enseñanza basada en la simulación humana se ha convertido en el estándar de oro en la formación médica de pregrado. Los estudiantes de medicina en Canadá, India y EE. UU. aprenden sin usar animales vivos a lo largo de todo el plan de estudios de pregrado.<sup>8,9</sup> Los expertos en medicina han recomendado alejarse de la pedagogía basada en animales y avanzar hacia “un plan de estudios robusto compuesto por didáctica, entrenadores de tareas, realidad virtual, cadáveres, software informático, simuladores de pacientes de alta fidelidad y trabajo clínico supervisado”.<sup>10</sup> A diferencia de los enfoques que usan animales, estos métodos de formación sin animales modelan con precisión la anatomía y la fisiología humanas, permiten a los estudiantes repetir procedimientos médicos hasta desarrollar las destrezas necesarias, mejoran la confianza del proveedor y la transferencia de las habilidades aprendidas a la práctica clínica, además de permitir a los educadores recibir retroalimentación objetiva en tiempo real sobre el desempeño.<sup>11,12</sup> La evidencia respalda el uso de simulaciones para mejorar las habilidades y/o el desempeño clínico en punciones lumbares,<sup>13</sup> suturas,<sup>14</sup> inserción de tubos torácicos<sup>15</sup> y muchos otros procedimientos. No existe justificación científica ni ética para continuar usando animales en la formación médica de pregrado. Por lo tanto, recomendamos ponerle fin a esta práctica.

### Formación médica de posgrado

Los beneficios de los métodos de formación sin animales se han demostrado en diversas disciplinas y técnicas en la formación médica de posgrado. Una revisión sistemática encontró que el uso de simuladores inmersivos de realidad virtual en programas de formación quirúrgica mejoró los tiempos de procedimiento, la finalización de tareas, la precisión, las valoraciones de los usuarios y la relación costo-efectividad.<sup>16</sup> Además, un metaanálisis sobre la eficacia de la formación en realidad virtual (RV) en cirugía laparoscópica concluyó que es igual de eficaz o superior a los entrenadores tradicionales, de video o de caja, en el desempeño durante el entrenamiento y en el quirófano.<sup>17</sup> La RV también puede capacitar a los cirujanos para afrontar problemas técnicos que surgen durante las cirugías.<sup>18</sup> Otro metaanálisis halló que el ahorro de tiempo y las mejoras en el rendimiento técnico quirúrgico en simuladores de RV para cirugía robótica eran transferibles al quirófano y que el desempeño en los simuladores predecía el desempeño en el quirófano.<sup>19</sup> En un metaanálisis de estudios de simulación de RV obstétrica se observó una mejora de las habilidades técnicas, y los autores señalaron “que debería considerarse la posibilidad de integrar la formación con simulación en el plan de estudios clínicos”.<sup>20</sup>

No existe justificación científica ni ética para continuar usando animales vivos en la formación médica de posgrado. Por ello, recomendamos eliminar esta práctica.

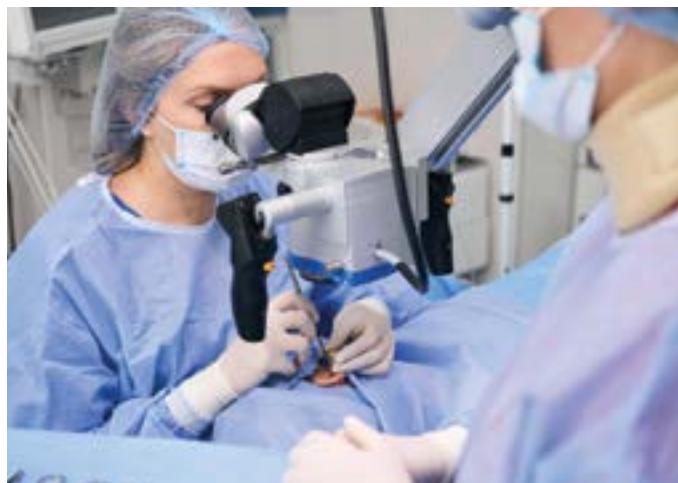
## Referencias

1. Patronek GJ, Rauch A. Systematic review of comparative studies examining alternatives to the harmful use of animals in biomedical education. *J Am Vet Med Assoc.* 2007;230(1):37-43.
2. Bian Z, Zhang Y, Ye G, et al. Laparoscopic training on virtual-reality simulators or live pigs—a randomized controlled trial. *Ann Med Surg.* 2023;85(7):3491-3496.
3. Goodman, Borch CA, Cherry E. Mounting opposition to vivisection. *Contexts.* 2012;11(2):68-69.
4. Reznick RK, MacRae H. Teaching surgical skills—changes in the wind. *N Engl J Med.* 2006;355(25):2664-2669.
5. Chouari TAM, Lindsay K, Bradshaw E, et al. An enhanced fresh cadaveric model for reconstructive microsurgery training. *Eur J Plast Surg.* 2018;41(4):439-446.
6. Institute of Medicine (US) Committee on quality of health care in America. *To Err Is Human: Building a Safer Health System.* National Academies Press (US); 2000.
7. Lamé G, Dixon-Woods M. Using clinical simulation to study how to improve quality and safety in healthcare. *BMJ Simul Technol Enhanc Learn.* 2020;6(2):87-94.
8. Physicians Committee for Responsible Medicine. The Physicians Committee congratulates Duke University on replacing animals in medical student curriculum. March 20, 2024. Accessed June 20, 2024. <https://www.pcrm.org/news/news-releases/physicians-committee-congratulates-duke-university-replacing-animals-medical>
9. Pawlowski J, Feinstein D, Crandall ML, Galo S. Modernizing biomedical training: replacing live animal laboratories with human simulation. In: Herrmann K, Jayne K, eds. *Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change.* BRILL; 2019:551-566.
10. Hansen LA. Animal laboratories are not needed to train medical students. *J Surg Educ.* 2014;71(4):454.
11. Duo A. Letters to the editor. *Mil Med.* 2014;179(7):vii.
12. Wu Q, Wang Y, Lu L, Chen Y, Long H, Wang J. Virtual simulation in undergraduate medical education: a scoping review of recent practice. *Front Med.* 2022;9:855403.
13. Goubert S, Blet A, Dib F, et al. Positive effects of lumbar puncture simulation training for medical students in clinical practice. *BMC Med Educ.* 2021;21(1):18.
14. Hanada K, Hoshino K, Tsuyuki S, et al. Ten-hour simulation training improved the suturing performance of medical students. *Ann Vasc Surg.* 2022;84:163-168.
15. Tan TX, Buchanan P, Quattramani E. Teaching residents chest tubes: simulation task trainer or cadaver model? *Emerg Med Int.* 2018;2018:1-6.
16. Mao RQ, Lan L, Kay J, et al. Immersive virtual reality for surgical training: a systematic review. *J Surg Res.* 2021;268:40-58.
17. Jin C, Dai L, Wang T. The application of virtual reality in the training of laparoscopic surgery: a systematic review and meta-analysis. *Int J Surg.* 2021;87:105859.
18. Kantamaneni K, Jalla K, Renzu M, et al. Virtual reality as an affirmative spin-off to laparoscopic training: an updated review. *Cureus.* August 17, 2021. Accessed March 24, 2025. [https://www.cureus.com/articles/67153-virtual-reality-as-an-affirmative-spin-off-to-laparoscopic-training-an-updated-review#//](https://www.cureus.com/articles/67153-virtual-reality-as-an-affirmative-spin-off-to-laparoscopic-training-an-updated-review#/)
19. Schmidt MW, Köpinger KF, Fan C, et al. Virtual reality simulation in robot-assisted surgery: meta-analysis of skill transfer and predictability of skill. *BJS Open.* 2021;5(2):zraa066.
20. Dromey BP, Peebles DM, Stoyanov DV. A systematic review and meta-analysis of the use of high-fidelity simulation in obstetric ultrasound. *Simul Healthc.* 2021;16(1):52-59.

## Formación en microcirugía

Actualmente existe una variedad de métodos sin animales, tanto de baja como de alta fidelidad, que los investigadores han desarrollado para enseñar de manera eficaz una amplia gama de habilidades microquirúrgicas básicas y avanzadas a médicos principiantes y expertos. Estas herramientas, que incluyen entrenadores de tareas, simuladores de RV, modelos de tejido humano y cadáveres humanos perfundidos obtenidos de manera ética, han sido respaldadas como reemplazos del uso de animales vivos para enseñar habilidades como reparación nerviosa, transferencias nerviosas y reconstrucción de colgajos (*flap*), así como disección, anastomosis, reparación e injertos de vasos.

Un estudio realizado por un equipo de investigadores en Londres evaluó la validez de Surgitate, un modelo de silicona tres en uno, para reducir el uso de animales en la formación en microcirugía.<sup>1</sup>



© iStock.com/yacobchuk

Los participantes realizaron anastomosis término-terminal en arterias, venas y nervios, y calificaron favorablemente el modelo para adquirir habilidades básicas de microcirugía.<sup>1</sup> Los autores afirman que el modelo Surgitate “podría ser particularmente útil para mejorar las habilidades de sutura como sustituto o reducción del uso de modelos de pollo”.<sup>1</sup> Dado que la cirugía plástica es una subespecialidad que a menudo utiliza técnicas microquirúrgicas, una revisión exhaustiva concluyó que “los simuladores protésicos están destinados a desempeñar un papel más importante en el desarrollo de un plan de estudios de formación en microcirugía estandarizado, ético, accesible y objetivamente medible para el residente de cirugía plástica y reconstructiva de hoy en día”.<sup>2</sup>

Una revisión sistemática de los métodos de formación en microcirugía corroboró estos resultados:

De la mejor evidencia disponible se desprende que la formación en microcirugía simulada con modelos de baja fidelidad puede ser tan eficaz como con modelos de alta fidelidad... En el Reino Unido y en otros lugares, el pilar de la formación microquirúrgica simulada ha sido históricamente la exposición a un curso de microcirugía *in vivo* con ratas, pero por lo general esto [se hace] en una fase demasiado temprana de la formación en la que no se puede hacer el puente con la exposición clínica práctica a casos relevantes y sin repetición.<sup>3</sup>

Un simulador neuroquirúrgico tridimensional y sin animales para la formación en microcirugía de aneurismas, desarrollado por un equipo en Berna, Suiza, fue considerado “confiable y potencialmente útil para la formación de residentes de neurocirugía y neurocirujanos certificados”, y la mayoría de los participantes en el estudio informó que este simulador era superior a los métodos convencionales de formación neuroquirúrgica.<sup>4</sup> La tecnología de RV es otra herramienta prometedora de formación que evita el uso de animales en la capacitación microquirúrgica. Un estudio para evaluar el impacto de la RV en el clipado microquirúrgico de la arteria cerebral media, encontró que la

formación con tecnología de RV mejoró la eficiencia quirúrgica, la velocidad y la seguridad de los participantes, independientemente de la complejidad del procedimiento.<sup>5</sup>

Investigadores de la División de Cirugía Plástica del Baylor College of Medicine revisaron los modelos actuales de formación para residentes y especialistas en entrenamiento en cirugía plástica. Este equipo concluyó que “el uso de cadáveres humanos en la formación de habilidades microquirúrgicas es superior a los modelos cadavéricos animales porque proporciona el tejido más ‘similar’ disponible”.<sup>6</sup> La formación en cadáveres humanos es particularmente útil para aprender la reconstrucción mediante colgajo. Un equipo de investigadores en Escocia que usó cadáveres humanos perfundidos para simular una cirugía de colgajo encontró que el modelo fue bien recibido por las personas en entrenamiento, fácilmente reproducible y efectivo en términos de costo y tiempo.<sup>7</sup> Este equipo señaló que, aunque anteriormente era popular el uso de animales vivos anestesiados para enseñar cirugías de levantamiento de colgajos microvasculares, la necesidad de personal especializado para supervisar a los animales resultaba en costos elevados y que los modelos con animales vivos “carecen de comparación directa con los tejidos y la anatomía humana, lo que limita la adquisición transferible de habilidades en la simulación”.<sup>7</sup> La mayoría de los programas de residencia en cirugía plástica envían a los residentes a cursos de habilidades microquirúrgicas y de colgajo.<sup>8</sup> Muchas instituciones no académicas ofrecen cursos de formación en microcirugía que no utilizan animales vivos. Por ejemplo, los residentes pueden asistir al Penn Flap Course, que usa cadáveres inyectados con látex para enseñar reconstrucción microquirúrgica basada en colgajos.<sup>9</sup>

A nivel internacional, actualmente se usan modelos de tejido humano *ex vivo* para la formación en microcirugía. La Universidad de Zúrich ha “desarrollado un protocolo estandarizado, establecido y probado hasta ahora para preparar los modelos de placenta perfundida usando herramientas que están fácilmente disponibles en cualquier departamento quirúrgico. Este modelo se emplea regularmente para la formación en microcirugía de miembros del personal y residentes, así como durante los cursos de formación que se celebran periódicamente”.<sup>10</sup> El Laboratorio de Microcirugía de Zúrich emplea estas placentas para enseñar microdissección, reparación microvascular y microanastomosis altamente realistas para replicar el flujo sanguíneo, además de proporcionar muchos más vasos que los participantes pueden usar.<sup>10</sup> Los modelos de placenta son ampliamente reconocidos como buenos modelos de simulación para la formación en microcirugía de residentes de neurocirugía, ya que permiten la simulación y el entrenamiento en diferentes tipos de anastomosis y cirugías de aneurismas intracraneales.<sup>11</sup> Investigadores franceses han llevado la versatilidad del modelo de placenta aún más lejos al combinar una réplica sintética del cráneo impresa en 3D con referencias anatómicas y estructuras vasculares placentarias para crear una experiencia quirúrgica más realista para los residentes de neurocirugía que buscan practicar el clipado de aneurismas.<sup>12</sup>

Otros ejemplos de modelos de tejido humano *ex vivo* usados para la formación en microcirugía de residentes incluyen vasos criopreservados, que los investigadores en educación médica también están explorando como una forma novedosa de aprender injertos venosos,<sup>13</sup> y anastomosis vascular con flujo pulsátil simultáneo.<sup>14</sup> Los modelos criopreservados no se usan actualmente de forma generalizada y son solo una de las diversas alternativas disponibles para la formación en microcirugía que deberían explorarse más a fondo.

Alrededor del 44% de los programas integrados de residencia en cirugía plástica en EE. UU. no usan animales vivos para enseñar habilidades microquirúrgicas de anastomosis.<sup>15</sup> En su lugar, estos programas emplean algunos de los modelos alternativos descritos anteriormente o una combinación de estos. Dada la gran cantidad de métodos de formación validados y sin animales que ya están disponibles, recomendamos poner fin al uso de animales vivos para la formación en microcirugía. La financiación para el desarrollo de alternativas al uso de tejidos animales en la formación en microcirugía debe aumentarse, ya que se necesitan más modelos relevantes para humanos para garantizar una mejor formación de los residentes en cirugía.

## Referencias

1. Alser O, Youssef G, Myers S, Ghanem AM. A novel three-in-one silicone model for basic microsurgery training. *Eur J Plast Surg*. 2020;43(5):621-626. doi:10.1007/s00238-020-01666-4
2. Abi-Rafeh J, Zammad T, Mojtahed Jaber M, Al-Halabi B, Thibaudeau S. Nonbiological microsurgery simulators in plastic surgery training: a systematic review. *Plast Reconstr Surg*. 2019;144(3):496e-507e.
3. Ghanem AM, Hachach-Haram N, Leung CCM, Myers SR. A systematic review of evidence for education and training interventions in microsurgery. *Arch Plast Surg*. 2013;40(04):312-319.
4. Joseph FJ, Weber S, Raabe A, Bervini D. Neurosurgical simulator for training aneurysm microsurgery—a user suitability study involving neurosurgeons and residents. *Acta Neurochir (Wien)*. 2020;162(10):2313-2321.
5. Steineke TC, Barbary D. Microsurgical clipping of middle cerebral artery aneurysms: preoperative planning using virtual reality to reduce procedure time. *Neurosurg Focus*. 2021;51(2):E12.
6. Kania K, Chang DK, Abu-Ghname A, et al. Microsurgery training in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg-Glob Open*. 2020;8(7):e2898.
7. Chouari TAM, Lindsay K, Bradshaw E, et al. An enhanced fresh cadaveric model for reconstructive microsurgery training. *Eur J Plast Surg*. 2018;41(4):439-446.
8. Elver AA, Egan KG, Phillips BT. Assessment of microsurgery simulation course access in plastic surgery training programs. *J Reconstr Microsurg*. 2024;40(06):482-488.
9. Klifto KM, Azoury SC, Muramoto LM, Zenn MR, Levin LS, Kovach SJ. The University of Pennsylvania Flap Course enters virtual reality: the global impact. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2021;9(3):e3495.
10. Höbner LM, Staartjes VE, Colombo E, Sebök M, Regli L, Esposito G. How we do it: the Zurich Microsurgery Lab technique for placenta preparation. *Acta Neurochir (Wien)*. 2023;165(12):3821-3824.
11. Gallardo FC, Bustamante JL, Martin C, et al. Novel simulation model with pulsatile flow system for microvascular training, research, and improving patient surgical outcomes. *World Neurosurg*. 2020;143:11-16.
12. Hudelist B, Prebat J, Lecarpentier E, Apra C. A realistic aneurysm clipping simulation combining 3D-printed and placenta-based models—how I do it. *Acta Neurochir (Wien)*. 2024;166(172).
13. Safi AF, Safi S, Tayeh M, et al. Vein graft interposition: a training model using gradually thawed cryopreserved vessels. *J Craniofac Surg*. 2019;30(3):e213-e216.
14. Joy MT, Applebaum MA, Anderson WM, Serletti JM, Capito AE. Impact of high-fidelity microvascular surgery simulation on resident training. *J Reconstr Microsurg*. 2024;40(03):211-216.
15. Mueller MA, Pourtaheri N, Evans GRD. Microsurgery training resource variation among US integrated plastic surgery residency programs. *J Reconstr Microsurg*. 2019;35(03):176-181.

## Formación en trauma

Un estudio publicado por un equipo de la Fuerza Aérea de EE. UU. comparó la autoeficacia reportada por reclutas que fueron instruidos en procedimientos de emergencia usando

simuladores humanos frente a aquellos que fueron entrenados con animales vivos –práctica conocida como entrenamiento con tejido vivo (LTT)– y encontró resultados equivalentes en ambos grupos. Los autores concluyeron que “la creencia en la superioridad del entrenamiento con animales puede ser solo un sesgo” y “si el objetivo de los instructores es formar individuos con alta autoeficacia, la simulación artificial es una modalidad adecuada en comparación con el estándar histórico de modelos animales vivos”.<sup>1</sup> El autor principal publicó una carta aparte en la misma revista médica en la cual afirmó que “[h]emos entrado en una era en la que los modelos de simuladores artificiales son al menos equivalentes, si no superiores, a los modelos animales... el ejército debería dar el paso de abandonar toda simulación con animales cuando existan simuladores artificiales efectivos y equivalentes para una tarea específica. Para los procedimientos de emergencia, ese día ha llegado”.<sup>2</sup>

Los métodos sin animales se usan de manera exclusiva en lugar de animales para la educación médica militar en más del 70% de los estados miembros de la OTAN,<sup>3</sup> y la Guardia Costera de EE. UU. se ha convertido en la primera rama de las Fuerzas Armadas estadounidenses en poner fin al uso de animales para esta práctica.<sup>4</sup> Paul F. Zukunft, comandante de la Guardia Costera, declaró que consideraba el LTT “francamente aborrecible en términos de cumplir con los requisitos de nuestra misión”.<sup>4</sup> Estos avances confirman que el uso de animales para el entrenamiento en trauma no es necesario ni se justifica.

Los esfuerzos para reemplazar el uso de animales por simuladores humanos en el entrenamiento militar en trauma han ganado muchos partidarios destacados, incluido el consejo editorial de *The New York Times*.<sup>5</sup> Esta iniciativa también es respaldada por numerosas organizaciones médicas y de veteranos que representan a más de 255 mil médicos y profesionales en formación, y que cuentan entre sus líderes con directores generales de salud pública de EE. UU.<sup>6</sup>

Un estudio publicado en 2018 concluyó que “la simulación de alta fidelidad ofrece muchas ventajas, incluyendo una amplia exposición a los procedimientos, sus complicaciones y la oportunidad de un aprendizaje repetitivo en un entorno no clínico”.<sup>7</sup> Los autores señalaron que “[l]os modelos sintéticos pueden producir una respuesta de estrés equivalente a la del tejido vivo durante el entrenamiento con simulación” y “proporcionar una experiencia inmersiva y realista suficiente para los residentes”.<sup>7</sup>

Otro estudio examinó el entrenamiento de personal quirúrgico de la Marina y el Ejército de EE. UU. con actores humanos usando un simulador quirúrgico conocido como *Cut Suit* y efectos especiales de la industria cinematográfica. Los autores observaron que el entrenamiento mediante simulación mejora el desempeño y “los procedimientos y procesos quirúrgicos”, y concluyeron que “[e]l equipo de simulación quirúrgica de alta fidelidad, como el... *Cut Suit*, combinado con entornos altamente realistas, permitirá que los

grupos de trauma quirúrgico perfeccionen sus habilidades para salvar vidas y su comunicación para maximizar los resultados exitosos en los pacientes. El entrenamiento inmersivo, altamente realista, de alta fidelidad y que causa estrés en trauma quirúrgico es ahora una opción para mejorar la preparación y las capacidades del personal de trauma”.<sup>8</sup>

Se han utilizado cadáveres y modelos de cadáveres perfundidos en entornos de campo con recursos mínimos para simular con precisión las habilidades críticas de todos los procedimientos de trauma en combate, incluyendo el entrenamiento con torniquetes en extremidades, acceso intraarterial en la carótida común derecha e intraóseo (IO) en el fémur distal para perfusión, así como la preparación de la orofaringe para procedimientos de vía aérea.<sup>9</sup> Además, los modelos cadavéricos pueden usarse para enseñar procedimientos de atención táctica al herido en combate, incluyendo vía aérea nasofaríngea, intubación endotraqueal, cricotirotomía, acceso a línea central, descompresión con aguja, toracostomía con dedo y tubo, oclusión endovascular de la aorta con balón para resucitación, torniquetes en zonas de unión, líneas IO y amputaciones en el campo.<sup>9</sup>

Un estudio publicado en 2019 en *Journal of Surgical Education* encontró que los supuestos beneficios del LTT en el pronóstico de los pacientes no están fundamentados: “[n]o existe evidencia publicada proveniente de ensayos controlados prospectivos que sugiera que los cursos de entrenamiento en habilidades quirúrgicas cambien el pronóstico de los pacientes con trauma, o mejoren el desempeño de las habilidades enseñadas cuando estas se ejecutan en un quirófano de verdad... No se identificó evidencia publicada sobre el beneficio del entrenamiento en muchos cursos establecidos, incluyendo: *Definitive Surgical Trauma Skills*, *Emergency Management of Battlefield Injuries*, *Endovascular Skills for Trauma and Resuscitative Surgery*, *Emergency War Surgery Course (EWSC)*, *Military Operational Surgical Training*, *Specialty Skills in Emergency Surgery and Trauma*, *Surgical Training for Austere Environments* o *Surgical Trauma Response Techniques*”, todos los cuales, según el artículo, “usaban tejido vivo (generalmente porcino)”.<sup>10</sup> Una revisión sistemática publicada en 2023 sobre el uso del LTT entre médicos militares y civiles, así como para técnicos médicos militares, concluyó que “la literatura no demuestra resultados traslacionales ni cambios posteriores en el comportamiento y desempeño de los aprendices en un entorno clínico que afecten la atención real al paciente”.<sup>11</sup>

Además, de acuerdo con un estudio independiente realizado por científicos alemanes, “[u]n análisis minucioso de la base empírica sobre las supuestas ventajas del LTT mostró que no es superior a los métodos basados en simulación en términos de beneficio educativo. Dado que existen alternativas creíbles que no causan daño a los animales, concluimos que el LTT con modelos animales está éticamente injustificado”.<sup>12</sup>

En el sector civil, el Colegio Estadounidense de Cirujanos ha

afirmado que los simuladores humanos pueden reemplazar el uso de animales en la capacitación de Soporte Vital Avanzado en Trauma (ATLS),<sup>13</sup> y los programas nacionales de ATLS en numerosos países han realizado la transición para poner fin al uso de animales con este propósito.<sup>14</sup>

Con base en la evidencia que respalda la eficacia de los métodos de entrenamiento sin animales, recomendamos poner fin al uso de animales en la capacitación en trauma, tanto militar como civil.

## Referencias

1. Hall AB, Rijoas R, Sharon D. Comparison of self-efficacy and its improvement after artificial simulator or live animal model emergency procedure training. *Mil Med.* 2014;179(3):320-323. doi:10.7205/MILMED-D-12-00446
2. Hall A. Letters to the editor. *Mil Med.* 2014;179(7):vii.
3. Gala SG, Goodman JR, Murphy MP, Balsam MJ. Use of animals by NATO countries in military medical training exercises: an international survey. *Mil Med.* 2012;177(8):907-910. doi:10.7205/MILMED-D-12-00056
4. Seck HH. Coast Guard puts permanent end to wounding animals for training. *Military.com.* March 20, 2018. Accessed March 12, 2025. <https://www.military.com/daily-news/2018/03/20/coast-guard-puts-permanent-end-wounding-animals-training.html>
5. *The New York Times* Editorial Board. Ban animal use in military medical training. *The New York Times.* June 25, 2016. Accessed October 11, 2024. <https://www.nytimes.com/2016/06/26/opinion/ban-animal-use-in-military-medical-training.html>
6. Rep. Hank Johnson. Leading medical groups endorse Johnson's Military Modernization Bill. June 27, 2016. Accessed October 11, 2024. <http://hankjohnson.house.gov/media-center/press-releases/leading-medical-groups-endorse-johnsons-military-modernization-bill>
7. Keller J, Hart D, Rule G, Bonnett T, Sweet R. The physiologic stress response of learners during critical care procedures: live tissue vs synthetic models. *Chest.* 2018;154(4):229A. doi:10.1016/j.chest.2018.08.206
8. Hoang TN, LaPorta AJ, Malone JD, et al. Hyper-realistic and immersive surgical simulation training environment will improve team performance. *Trauma Surg Acute Care Open.* 2020;5(1):e000393. doi:10.1136/tsaco-2019-000393
9. Redman TT, Ross EM. A novel expeditionary perfused cadaver model for trauma training in the out-of-hospital setting. *J Emerg Med.* 2018;55(3):383-389. doi:10.1016/j.jemermed.2018.05.032
10. Mackenzie CF, Tisherman SA, Shackelford S, Sevdalis N, Elster E, Bowyer MW. Efficacy of trauma surgery technical skills training courses. *J Surg Educ.* 2019;76(3):832-843. doi:https://doi.org/10.1016/j.jssurg.2018.10.004
11. Swain CS, Cohen HML, Helgesson G, Rickard RF, Karlgren K. A systematic review of live animal use as a simulation modality ("live tissue training") in the emergency management of trauma. *J Surg Educ.* 2023;80(9):1320-1339. doi:10.1016/j.jssurg.2023.06.018
12. Rubels G, Steger F. Is live-tissue training ethically justified? An evidence-based ethical analysis. *Altern Lab Anim.* 2018;46(2):65-71. doi:10.1177/026119291804600206
13. American College of Surgeons. Alternative models for the ATLS surgical skills practicum. November 7, 2001. Accessed October 9, 2024. <https://www.peta.org/wp-content/uploads/2022/02/ACS-ATLS-2001-alternatives-endorsement.pdf>
14. Belisimo R. 'TraumaMan' helps doctors save humans, spares animals. *Reuters.* September 25, 2016. Accessed October 9, 2024. <https://www.reuters.com/article/us-health-surgeons-traumaman/traumamanhelps-doctors-save-humans-spare-animals-idUSKCN0RP10620150925/>

## El futuro de la investigación en educación médica

Los educadores deben evaluar la precisión y la eficacia de las nuevas herramientas de simulación para integrarlas en la formación quirúrgica y el entrenamiento en procedimientos. Además, deben realizarse estudios robustos que analicen qué tan bien estos modelos enseñan habilidades específicas y si estas se traducen en competencias reales en los ámbitos clínico, procedimental y quirúrgico. Sin embargo, los métodos de evaluación actuales a menudo carecen de un diseño adecuado y no proporcionan evidencia suficiente sobre la efectividad de estos modelos para mejorar el desempeño clínico.



© iStock.com/PonyWiang

Los investigadores en educación médica deben recopilar datos diversos para evaluar de manera integral los modelos de simulación o replicar diseños de estudios previos con nuevas tecnologías para comparar hallazgos. Teniendo en cuenta que la validación es un proceso continuo, es crucial que los investigadores justifiquen el uso de un simulador específico para una habilidad particular en un contexto específico, en lugar de emitir juicios dicotómicos sobre su validez.<sup>1</sup>

Para establecer la validez aparente y de contenido de una herramienta de simulación, muchos estudios se centran en opiniones subjetivas sobre su desempeño y diseño.<sup>2</sup> Si bien estas evaluaciones son útiles, son menos rigurosas que otras medidas de validez de un simulador.<sup>2</sup> Las revisiones sistemáticas, similares a las que se realizan en la investigación clínica y, cada vez más, en la preclínica, son valiosas para identificar las limitaciones de las metodologías de investigación en educación médica.

Para desarrollar planes de estudio de alta calidad que incluyan simulación, los investigadores deben:

- Priorizar estudios que evalúen la validez predictiva de un simulador para determinar si desarrolla eficazmente habilidades clínicas transferibles.
- Diseñar y evaluar programas de formación integrales, en lugar de validar solo un aspecto de un simulador.

Un buen diseño de estudio en la formación mediante simulación en educación médica es crucial para lograr una adecuada preparación de los médicos, minimizar el riesgo para los pacientes y evitar el uso continuado de animales basado en estudios defectuosos.

## Referencias

1. Cook DA, Hatala R. Validation of educational assessments: a primer for simulation and beyond. *Adv Simul.* 2016;1(1):31.
2. Thomas GW, Johns BD, Marsh JL, Anderson DD. A review of the role of simulation in developing and assessing orthopaedic surgical skills. *Iowa Orthop J.* 2014;34:181-189.

## Evaluación de la toxicidad

A continuación, se detallan las oportunidades para eliminar o reducir significativamente el uso de animales en la evaluación de la toxicidad de sustancias en el contexto de los requisitos regulatorios en esta materia. También se describen las áreas en las que se requiere un mayor apoyo para desarrollar métodos innovadores que sean relevantes para la evaluación de la salud humana y los parámetros ambientales.

En caso de que las pruebas sean requeridas con fines regulatorios, deben consultarse fuentes directas, como los sitios web de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), el Consejo Internacional para la Armonización de Requisitos Técnicos para Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH) y la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. (EPA), para obtener las versiones más recientes de las directrices y guías correspondientes.

### Enfoques para la evaluación de la toxicidad

La toma de decisiones regulatorias se facilita mediante el uso de toda la información relevante disponible sobre una sustancia. Una forma de evaluar toda la evidencia es utilizar un enfoque integrado de pruebas y evaluación (IATA)<sup>1</sup> que considere múltiples tipos de información sobre la toxicidad de una sustancia a partir del peso de la evidencia (WoE). La información que debe tenerse en cuenta incluye datos existentes sobre la sustancia (p. ej., de estudios *in chemico*, *in vitro*, *in vivo* en humanos o *in vivo* en animales), las propiedades fisicoquímicas de la sustancia, datos de enfoques sin pruebas (p. ej., QSAR y *read-across*), datos recientemente generados (de preferencia, mediante métodos confiables y relevantes sin animales), tecnologías ómicas (p. ej., toxicogenómica) y patrones de uso o escenarios de exposición. Los datos considerados más confiables, relevantes y/o útiles para el ámbito regulatorio tienen mayor influencia en la conclusión de la evaluación. Al examinar los datos disponibles en conjunto, es posible realizar una evaluación robusta del riesgo de una sustancia sin generar nuevos datos mediante estudios adicionales *in vivo* (p. ej., véase la sección sobre carcinogenicidad). Además, una evaluación holística de los datos garantizará que no se dupliquen estudios *in vivo* existentes.

Las evaluaciones mediante IATA y WoE suelen requerir juicio experto al momento de integrar los resultados de enfoques combinados para llegar a una conclusión fundamentada para la toma de decisiones. Los métodos, tecnologías y marcos que pueden incluirse en dichos enfoques son accesibles para quienes cuentan con el conocimiento tecnológico adecuado y existen diversos documentos de orientación y estudios de caso que ayudan a desarrollar un IATA. Por ejemplo, la OCDE ha publicado directrices sobre el uso de enfoques definidos dentro de un IATA.<sup>2</sup>

Los enfoques definidos consisten en un procedimiento fijo de interpretación aplicado a datos generados con un conjunto determinado de fuentes de información para derivar una predicción sin necesidad de juicio experto.<sup>3</sup> En la sección de sensibilización cutánea verá ejemplos de enfoques definidos.

Las rutas de resultados adversos (AOP) ofrecen un marco adicional para organizar los datos recopilados mediante diversos métodos y niveles biológicos y evaluar las conexiones entre eventos clave y efectos adversos. A diferencia de las pruebas en animales, los métodos sin animales reflejan la biología y los mecanismos de toxicidad relevantes para los humanos. Las AOP organizan eventos clave vinculados causalmente desde la exposición química hasta un resultado adverso. Las pruebas sin animales que evalúan eventos clave específicos en una AOP permiten establecer si ocurrirá un resultado adverso tras la exposición química en humanos. El Programa de Desarrollo de AOP de la OCDE respalda el diseño estructurado de las AOP y proporciona orientación para su uso dentro de un IATA, tal como se describe en su Documento de Orientación para el Uso de Rutas de Resultados Adversos en el Desarrollo de Enfoques Integrados de Pruebas y Evaluación. Esta iniciativa promueve la aplicación práctica de las AOP en entornos regulatorios.<sup>4</sup>

Como se mencionó anteriormente, la consideración de la exposición también puede formar parte de un enfoque integrado. Cuando la exposición humana y ambiental a una sustancia es baja o cuando las propiedades fisicoquímicas de una sustancia determinan que ciertas vías de exposición no son relevantes, podría no estar científicamente justificado (o ser posible) realizar pruebas de toxicidad para cumplir con ciertos requisitos de información. Cuando se considera la exposición, el enfoque de la toma de decisiones regulatorias puede pasar de un método basado en el peligro a un enfoque centrado en el riesgo que permita minimizar las pruebas en animales.<sup>5</sup>

Sin embargo, se necesita un marco sistemático para evaluar la relevancia biológica y toxicológica de los métodos individuales, considerando también diferentes escenarios de exposición. A fin de consolidar estos enfoques, la Cooperación Internacional en Regulación de Cosméticos (ICCR) ha establecido principios clave para integrar métodos sin animales en una estrategia de evaluación de riesgos de próxima generación (NGRA),<sup>6</sup> un enfoque basado en la exposición y guiado por hipótesis, que integra métodos sin animales para garantizar que la exposición a sustancias químicas no cause daño.<sup>7</sup> La Asociación para la Evaluación de Riesgos de Sustancias Químicas (PARC), una iniciativa financiada por la UE para modernizar las evaluaciones de seguridad química, también tiene como objetivo que la NGRA sea el enfoque predeterminado para la evaluación de riesgos químicos en la legislación europea sobre sustancias químicas.<sup>8</sup>

Además de minimizar las pruebas en animales, los IATA pueden aprovechar datos y usar métodos de alto rendimiento para evaluar

un gran número de sustancias químicas de manera más eficiente que las pruebas en animales. Los IATA tienen el potencial de transformar dramáticamente el panorama regulatorio actual al permitir decisiones más relevantes para los humanos y basadas en la evaluación del peligro y de la exposición. Asimismo, con un esfuerzo concertado entre las partes interesadas, se pueden lograr avances similares con enfoques integrados para la protección ambiental.<sup>4</sup>

## Referencias

1. OECD. Integrated approaches to testing and assessment (IATA). 2021. Accessed October 15, 2021. <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/assessment-of-chemicals/integrated-approaches-to-testing-and-assessment.html>
2. OECD. Guidance document on the reporting of defined approaches to be used within integrated approaches to testing and assessment. OECD Series on Testing and Assessment, No. 255. April 13, 2017. Accessed November 7, 2024. <https://doi.org/10.1787/9789264274822-en>
3. OECD. Guideline No. 497: Defined approaches on skin sensitisation. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. July 4, 2023. Accessed March 25, 2025. <https://doi.org/10.1787/b92879a4-en>
4. OECD. Guidance document for the use of adverse outcome pathways in developing integrated approaches to testing and assessment (IATA). OECD Series on Testing and Assessment, No. 260. March 10, 2017. Accessed November 7, 2024. <https://doi.org/10.1787/44bb06c1-en>
5. Ball N. Developing the scientific basis for exposure based adaptations (EBA)—technical report no 137. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. October 2, 2020. Accessed March 25, 2025. <https://policycommons.net/artifacts/1662601/developing-the-scientific-basis-for-exposure-based-adaptations-eba-technical-report-no/2394251>
6. Dent M, Amaral RT, Da Silva PA, et al. Principles underpinning the use of new methodologies in the risk assessment of cosmetic ingredients. *Comput Toxicol*. 2018;7:20-26.
7. Baltazar MT, Cable S, Carmichael PL, et al. A next-generation risk assessment case study for coumarin in cosmetic products. *Toxicol Sci*. 2020;176(1):236-252.
8. Herzler M. Partnership for the Assessment of Risks from Chemicals (PARC) NGRAroute: a roadmap for making EU chemicals legislation NGRA-ready. EC roadmap workshop. Brussels, December 12, 2023. Accessed January 21, 2025. [https://single-market-economy.ec.europa.eu/presentations-workshop-commission-roadmap-towards-phasing-out-animal-testing-chemical-safety\\_en](https://single-market-economy.ec.europa.eu/presentations-workshop-commission-roadmap-towards-phasing-out-animal-testing-chemical-safety_en)

## Cosméticos

En Australia, Brasil, Canadá, Colombia, Corea del Sur, Ecuador, Guatemala, India, Suiza, Taiwán, el Reino Unido y la UE, entre otras regiones, se ha promulgado legislación que prohíbe las pruebas en animales con fines cosméticos y/o la venta de productos cosméticos que contengan ingredientes probados en animales. En otros países, como EE. UU., se han adoptado leyes que limitan el uso de datos de pruebas en animales a nivel estatal en lugar de a nivel nacional. Este cambio global hacia la eliminación de las pruebas en animales para cosméticos muestra que este sector ha estado a la vanguardia en métodos innovadores de evaluación de seguridad que tienen el potencial de aplicarse de manera más amplia.

Sin embargo, a pesar del carácter innovador de estas prohibiciones, ciertos requisitos regulatorios han socavado su plena implementación. Por ejemplo, las empresas pueden vender productos en la UE y el Reino Unido, incluso si han sido probados en animales en otros lugares, como China, siempre que los resultados de esas pruebas no se usen para cumplir los requisitos de las normativas cosméticas correspondientes. Las empresas pueden pagar por pruebas en animales exigidas en otros mercados mientras usan datos de métodos sin animales para

cumplir con las normativas de la UE o del Reino Unido. En EE. UU., aunque no existe un requisito específico para probar productos cosméticos o sus ingredientes en animales, debido a los diferentes enfoques regionales para la clasificación de productos, la FDA solicita en algunos casos dichas pruebas después de que los productos han sido aprobados para su comercialización.<sup>1</sup> Los protectores solares, por ejemplo, se regulan como cosméticos en la UE, pero en EE. UU. son considerados medicamentos de venta libre. La FDA ha anunciado su intención de exigir que se realicen nuevas pruebas en animales para mantener en el mercado los protectores solares que contengan cualquiera de los 12 ingredientes activos específicos indicados en una orden de 2021. No se ha hecho ninguna solicitud similar de nuevos datos sobre los mismos productos en la UE ni en otros lugares.

También existen conflictos en algunas áreas entre la legislación sobre productos químicos industriales y la legislación específica para cosméticos. La Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA), respaldada por la Comisión Europea, puede exigir pruebas en animales en virtud del reglamento REACH (Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Sustancias Químicas) para evaluar la exposición de los trabajadores y los riesgos ambientales de las sustancias usadas exclusivamente en productos cosméticos. Para la evaluación de sustancias utilizadas en cosméticos y en otros tipos de productos, los requisitos regulatorios de REACH se aplican a todos los parámetros de salud humana y ambiental, independientemente de la exposición de los trabajadores.<sup>2</sup> Conflictos legislativos similares también existen en Australia y Canadá.

Dado que actualmente se usan diversos métodos sin animales para la evaluación de cosméticos, es posible eliminar las pruebas en animales y, al mismo tiempo, promover el rigor científico. Por ejemplo, la NGRA es un enfoque progresivo que implica una evaluación basada en hipótesis y guiada por la exposición, combinando métodos *in silico*, *in chemico* e *in vitro* para permitir predicciones de riesgo más precisas y garantizar la confiabilidad de las evaluaciones de seguridad.<sup>3-6</sup> Los marcos NGRA pueden adaptarse para tomar decisiones sobre la seguridad de los trabajadores expuestos a productos químicos durante la fabricación.<sup>7</sup> Del mismo modo, los estudios de caso de la OCDE demuestran cómo los enfoques escalonados y flexibles de pruebas y evaluación pueden usarse para abordar problemas de seguridad en diferentes escenarios regulatorios, desde la sensibilización cutánea hasta la toxicidad sistémica y reproductiva.<sup>8</sup> La guía del Comité Científico de Seguridad de los Consumidores (SCCS) sobre evaluaciones de seguridad cosmética ofrece información sobre cómo aplicar eficazmente estos enfoques innovadores.<sup>9</sup> Además, la Colaboración Internacional en la Seguridad de los Cosméticos (ICCS), una coalición de empresas de cosméticos y cuidado personal, fabricantes de ingredientes, asociaciones comerciales y ONG,<sup>10</sup> está desarrollando directrices estandarizadas de buenas prácticas sobre el uso y la comprensión de las nuevas metodologías y las NGRA para avanzar en su aceptación regulatoria.<sup>11</sup>

La falta de alineación entre las políticas y los avances científicos en la evaluación de cosméticos subraya la necesidad urgente de tomar medidas eficaces para garantizar que se usen métodos sin animales para proteger a los consumidores, los trabajadores y el ambiente. En mayo de 2023, el gobierno del Reino Unido dio un paso significativo al suspender la emisión de nuevas licencias para pruebas en animales de ingredientes usados exclusivamente en cosméticos.<sup>12</sup> Para noviembre de 2023, el Ministerio del Interior confirmó que dichas pruebas también habían cesado bajo todas las licencias antiguas que aún estaban vigentes.<sup>13</sup> Esta medida marca el avance del Reino Unido hacia la eliminación total de las pruebas en animales para cosméticos. Sin embargo, los ingredientes que también se usan en otros productos para el hogar continúan sometiéndose a pruebas en animales, ya que no están completamente exentos de este requisito.

La transparencia total es esencial para promover decisiones informadas por parte de los consumidores, garantizar la confianza del público y abordar la pérdida de efectividad de la legislación y las políticas diseñadas para asegurar que no se usen animales en la evaluación de productos cosméticos ni de sus ingredientes para ningún fin regulatorio.

## Referencias

1. FDA. Amending over-the-counter monograph M020: Sunscreen drug products for over-the-counter human use; over the counter monograph proposed order; availability. Docket No. FDA-1978-N-0018, 86 FR 53322. September 27, 2021. Accessed December 10, 2024. <https://www.federalregister.gov/d/2021-20780>
2. ECHA. Clarity on interface between REACH and the cosmetics regulation. October 27, 2014. Accessed August 9, 2024. [https://echa.europa.eu/view-article/-/journal\\_content/title/clarity-on-interface-between-reach-and-the-cosmetics-regulation](https://echa.europa.eu/view-article/-/journal_content/title/clarity-on-interface-between-reach-and-the-cosmetics-regulation)
3. Dent M, Amaral RT, Da Silva PA, et al. Principles underpinning the use of new methodologies in the risk assessment of cosmetic ingredients. *Comput Toxicol*. 2018;7:20-26.
4. Casati S, Zuang V, Whelan M. EURL ECVAM recommendation on the use of non-animal approaches for skin sensitisation testing. April 28, 2017. Accessed August 9, 2024. <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC106410>
5. Fentem JH. The 19<sup>th</sup> FRAME Annual Lecture, November 2022: Safer chemicals and sustainable innovation will be achieved by regulatory use of modern safety science, not by more animal testing. *Altern Lab Anim*. 2023;51(2):90-101.
6. Berggren E, White A, Quedraogo G, et al. Ab initio chemical safety assessment: a workflow based on exposure considerations and non-animal methods. *Comput Toxicol*. 2017;4:31-44.
7. Wood A, Breffa C, Chaine C, et al. Next generation risk assessment for occupational chemical safety—a real world example with sodium-2-hydroxyethane sulfonate. *Toxicology*. 2024;506:153835.
8. OECD. Integrated approaches to testing and assessment (IATA). Accessed October 18, 2024. <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/assessment-of-chemicals/integrated-approaches-to-testing-and-assessment.html>
9. SCCS. SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation—12<sup>th</sup> revision. May 15, 2023 (corrigendum 1 on October 26, 2023; corrigendum 2 on December 21, 2023). Accessed March 31, 2025. SCCS/1647/22. [https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-12th-revision\\_en](https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-12th-revision_en)
10. ICCS. ICCS members. Accessed August 12, 2024. <https://www.iccs-cosmetics.org/members>
11. ICCS. International Collaboration on Cosmetics Safety and the Cosmetic Ingredient Review commit to a working partnership to progress sharing of information and collaboration. October 14, 2014. November 7, 2024. <https://www.iccs-cosmetics.org/iccs-and-icr-commit-to-a-working-partnership-to-progress-sharing-of-information-and-collaboration>
12. Bravermann S. Regulation update. Written statement HCWS779. U.K. Parliament. May 17, 2023. Accessed December 3, 2024. <https://questions-statements.parliament.uk/written-statements/detail/2023-05-17/hcws779>
13. Tugendhat T. Animal experiments: cosmetics. Question 2844. U.K. Parliament. November 21, 2023. Accessed December 3, 2024. <https://questions-statements.parliament.uk/written-questions/detail/2023-11-21/2844>



© iStock.com/gmcoop

## Ecotoxicidad

### Toxicidad acuática y bioacumulación

Las pruebas de toxicidad acuática se realizan para medir los efectos de los productos químicos en el ambiente y los animales silvestres. En 2022, más de 122 mil peces fueron usados con fines regulatorios en la UE y Noruega.<sup>1</sup> Dado que la evaluación de la bioacumulación y la toxicidad acuática es un requisito en diversos marcos normativos, se necesitan con urgencia estrategias para sustituir las pruebas en animales acuáticos.

Se ha desarrollado un prometedor ensayo de citotoxicidad con la línea celular RTgill-W1 para estas evaluaciones,<sup>2</sup> y la correspondiente directriz de prueba de la OCDE fue adoptada en 2021.<sup>3</sup> Este ensayo *in vitro* puede reducir o incluso reemplazar el uso de animales en la prueba de toxicidad aguda en peces.<sup>4</sup>

Para mejorar la predicción de la toxicidad aguda en peces, el proyecto 2.54 del plan de trabajo del Programa de Directrices de Prueba de la OCDE está elaborando un documento de orientación sobre IATA para esta área. Este proyecto está copresidido por Austria y el Consejo Internacional para la Protección Animal en los Programas de la OCDE (ICAPO), representado por PETA Science Consortium International.

Cuando aún se requiera la experimentación en animales, el número usado y la necesidad de repetir estudios pueden reducirse mediante la aplicación cuidadosa del Documento de Orientación 23 de la OCDE sobre Pruebas de Toxicidad Acuática de Sustancias y Mezclas Difíciles.<sup>5</sup> Este documento se actualizó en 2019 con información sobre enfoques para las pruebas de toxicidad acuática de productos químicos difíciles de evaluar.

En esta guía se prestó especial atención a la actualización de los métodos disponibles para evaluar sustancias químicas poco

solubles en agua, evitando el uso de disolventes. De este modo, se elimina la necesidad de un grupo de control con disolvente y se reduce el número de animales usados en las pruebas. Además, EE. UU. e ICAPO (representado por PETA Science Consortium International) codirigen el proyecto 2.55 del plan de trabajo del Programa de Directrices de Ensayo de la OCDE sobre el uso y análisis de peces de control en estudios de toxicidad. En este proyecto, se emplean análisis estadísticos de datos existentes y simulaciones para investigar si es posible realizar estudios de toxicidad acuática con un solo control cuando se usa un disolvente, reduciendo aún más el número de animales explotados para este fin.

Actualmente existen varios métodos sin animales para reducir el número de peces usados en pruebas de bioacumulación. En 2018, la OCDE adoptó dos ensayos para la evaluación de la depuración intrínseca *in vitro* con hepatocitos de trucha arcoíris criopreservados<sup>6</sup> y la fracción subcelular S9 del hígado de trucha arcoíris,<sup>7</sup> así como su documento de orientación correspondiente.<sup>8</sup> Los valores de depuración intrínseca hepática pueden emplearse en modelos toxicocinéticos basados en la fisiología para la bioacumulación en peces y para la extrapolación a una tasa de biotransformación *in vivo*. Esta última puede usarse con modelos *in silico* para la predicción de factores de bioconcentración. Así, aunque estas directrices de ensayo requieren el uso de peces para obtener células primarias, pueden contribuir a sustituir el uso de peces vivos en la Prueba Nro. 305 de la OCDE sobre bioacumulación en peces.<sup>9</sup>

## Referencias

1. European Commission. Summary report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the member states of the European Union and Norway in 2020. March 31, 2023. Accessed June 27, 2024. <https://circabc.europa.eu/ui/group/8ee3c69a-bccb-4f22-89ca-277e35de7c63/library/10ad28d6-e17e-4367-b459-20883402cfcc/details?download=true>
2. Tanneberger K, Knäbel M, Busser FJM, Sinnige TL, Hermens JLM, Schirmer K. Predicting fish acute toxicity using a fish gill cell line-based toxicity assay. *Environ Sci Technol*. 2013;47(2):1110-1119.
3. OECD. Test No. 249: Fish cell line acute toxicity: the RTgill-W1 cell line assay. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. June 18, 2021. Accessed March 25, 2025. <https://doi.org/10.1787/c66d5190-en>
4. OECD. Test No. 203: Fish, acute toxicity test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Updated June 18, 2019. Accessed March 25, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264069961-en>
5. OECD. Guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures. OECD Series on Testing and Assessment, May 16, 2019. Accessed March 25, 2025. <https://doi.org/10.1787/0ed2f88e-en>
6. OECD. Test No. 319A: Determination of *in vitro* intrinsic clearance using cryopreserved rainbow trout hepatocytes (RT-HEP). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3. June 27, 2018. Accessed March 25, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264303218-en>
7. OECD. Test No. 319B: Determination of *in vitro* intrinsic clearance using rainbow trout liver S9 sub-cellular fraction (RT-S9). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3. June 25, 2018. Accessed March 25, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264303232-en>
8. OECD. Guidance document on the determination of *in vitro* intrinsic clearance using cryopreserved hepatocytes (RT-HEP) or liver S9 sub-cellular fractions (RT-S9) from rainbow trout and extrapolation to *in vivo* intrinsic clearance. OECD Series on Testing and Assessment, No. 280. July 6, 2018. Accessed April 4, 2025. [https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(2018\)12/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2018)12/en/pdf)
9. OECD. Test No. 305: Bioaccumulation in fish: aqueous and dietary exposure. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3. October 2, 2012. Accessed March 25, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264185296-en>

## Toxicidad en aves

En la actualidad, la mayoría de las autoridades regulatorias exigen pruebas de toxicidad en aves para evaluar los posibles

efectos ecológicos de las sustancias químicas en aves terrestres. Generalmente se requieren tres de estas pruebas para cumplir con los requisitos regulatorios: pruebas orales agudas, pruebas alimenticias y pruebas de reproducción. En las pruebas orales agudas y alimenticias se usan hasta 120 aves. En la prueba oral, se les administra la sustancia de manera forzada mediante una sonda durante un día, seguida de un período de observación de 14 días. En la prueba alimenticia, se les da la sustancia química como alimento durante cinco días, seguida de un período de observación de tres días. En la prueba de reproducción, más de 120 aves adultas son alimentadas con la sustancia química durante ocho a diez semanas y se asesinan varios cientos o miles de crías para examinar posibles efectos adversos en la reproducción.

La comunidad científica ha expresado su preocupación sobre la utilidad de las pruebas en aves para proteger a las especies terrestres. Los resultados de estas pruebas, que a menudo se realizan en dos especies, se usan para extrapolar los posibles efectos en miles de especies de aves regionales. Además, la evitación del alimento, la regurgitación y otros problemas causados por los métodos empleados para dosificar a las aves han dado lugar a estimaciones de toxicidad inexactas.

Para abordar estos problemas, PETA Science Consortium International colaboró con la EPA para evaluar el uso de pruebas orales y alimenticias en aves en la toma de decisiones sobre la gestión de riesgos.<sup>1</sup> La revisión retrospectiva examinó 20 años de datos de evaluación de riesgos y encontró que la prueba alimenticia generalmente no se usa para la gestión de riesgos. Este estudio se utilizó para respaldar la política de la EPA de 2020 (Guía final para la exención de pruebas alimenticias subagudas en aves para el registro de pesticidas y análisis retrospectivo de apoyo) que puede evitar que más de 700 aves sean sometidas a pruebas de toxicidad cada año y ahorrar recursos que se emplearían mejor en el desarrollo de métodos sin animales adecuados para pruebas de toxicidad terrestre.<sup>2</sup>

PETA Science Consortium International está llevando a cabo una iniciativa similar para examinar el uso de dos especies en pruebas de reproducción aviar. Esta revisión retrospectiva analizará las diferencias en la sensibilidad de las especies de aves frente a cientos de ingredientes activos en pesticidas, con el fin de identificar tendencias sobre cómo se usan las respuestas de toxicidad en la toma de decisiones regulatorias. La iniciativa busca identificar información que no se está utilizando en este proceso. Además de estos proyectos, iniciativas como Sequence Alignment to Predict Across Species Susceptibility (SeqAPASS) buscan modernizar las pruebas ecológicas mediante métodos computacionales predictivos que tienen el potencial de reducir las pruebas en animales terrestres y mejorar la protección ecológica.<sup>3</sup>

La falta de armonización a nivel global resulta en un aumento de las pruebas para cumplir con requisitos regionales específicos. Por ejemplo, la Comisión Europea y el Comité Central de

Insecticidas y Registro (CIB&RC) en la India exigen el uso de una sola especie para la prueba de reproducción aviar, mientras que la EPA en EE. UU. y la Agencia Reguladora de Manejo de Plagas de Canadá requieren dos especies de prueba. Además, la EPA permite exenciones para la prueba alimenticia aviar, y dicha prueba no es requerida por la Comisión Europea ni en Japón, pero sigue siendo obligatoria en India y China. La armonización es necesaria para eliminar a nivel mundial la exigencia de pruebas que, como se ha demostrado, no aportan información útil o que están afectando la calidad de la toma de decisiones regulatorias.

## Referencias

1. Hilton GM, Odenkirchen E, Panger M, Woleko G, Lowit A, Clippinger AJ. Evaluation of the avian acute oral and sub-acute dietary toxicity test for pesticide registration. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2019;105:30-35.
2. EPA OPP. Final guidance for waiving sub-acute avian dietary tests for pesticide registration and supporting retrospective analysis. February 2020. Accessed March 25, 2025. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2020-02/documents/final-waiver-guidance-avian-sub-acute-dietary.pdf>
3. LaLone CA, Villeneuve DL, Lyons D, et al. Editor's highlight: Sequence alignment to predict across species susceptibility (SeqAPASS): a web-based tool for addressing the challenges of cross-species extrapolation of chemical toxicity. *Toxicol Sci.* 2016;153(2):228-245.

## Disrupción endocrina

Los alteradores endocrinos (o disruptores endocrinos) son sustancias químicas naturales o sintéticas que interfieren con el sistema endocrino,<sup>1</sup> influyendo en diversas respuestas dentro de las vías biológicas responsables de regular funciones biológicas fundamentales, como el crecimiento, el desarrollo, la reproducción, el equilibrio energético, el metabolismo o la regulación del peso corporal. Desde la perspectiva regulatoria de la seguridad química, las vías endocrinas más investigadas son los sistemas de estrógenos, andrógenos, tiroideos y esteroidogénesis (EATS) y, en menor medida, los sistemas no EATS, como la vía de los retinoides.<sup>2</sup>

Se sabe mucho sobre los complejos mecanismos mediante los cuales las sustancias químicas pueden interferir con las vías endocrinas en humanos<sup>3</sup> y animales silvestres.<sup>4</sup> Numerosas AOP relacionadas con la disrupción endocrina están incluidas en el AOP Wiki,<sup>5</sup> y la OCDE ha publicado varios estudios de caso sobre IATAs.<sup>6</sup> Las pruebas *in vivo* para evaluar la disrupción endocrina presentan una alta variabilidad (p. ej., el estrés que experimenta un animal puede influir significativamente en el resultado del estudio) y baja sensibilidad, por lo que es poco probable que detecten eventos relevantes de disrupción endocrina.<sup>7</sup> Los estudios clásicos basados en parámetros finales no son apropiados en esta área y deben ser reemplazados por estudios *in vitro*, en los cuales los múltiples factores que podrían afectar los resultados pueden controlarse de manera más eficaz.

Entre 2019 y 2024, ocho proyectos bajo el European Cluster to Improve Identification of Endocrine Disruptors (EURION), con una financiación de 50 millones de euros por parte de la Comisión Europea, se centraron en el desarrollo de herramientas destinadas a mejorar la evaluación regulatoria de los efectos relacionados con el sistema endocrino (alteración del sistema de

hormonas tiroideas, trastornos metabólicos, neurotoxicidad del desarrollo y fertilidad femenina) y en reducir la dependencia de las pruebas en animales. Un reporte sobre el proyecto EURION concluyó que se necesita apoyo para una implementación más rápida de los hallazgos científicos en métodos de prueba, así como para la actualización de los requisitos de prueba en las normativas químicas con el fin de incluir los ensayos desarrollados recientemente.<sup>8</sup>

La Oficina de Investigación y Desarrollo (ORD) de la EPA está desarrollando ensayos *in silico* e *in vitro*, así como AOP, para evaluar de manera robusta los efectos de sustancias químicas sobre el sistema endocrino. Por ejemplo, el Toxicity Forecaster (ToxCast) de la EPA clasifica y prioriza sustancias químicas usando más de 700 ensayos de cribado de alto rendimiento y toxicología computacional que abarcan una variedad de respuestas celulares relevantes y vías de señalización.

Tras un estudio comparativo de los resultados de los ensayos de la vía del estrógeno en ToxCast y en el ensayo uterotrófico,<sup>9</sup> la EPA anunció que aceptará los datos del Modelo de Bioactividad ER de ToxCast como alternativa a al menos una prueba en animales,<sup>10,11</sup> el ensayo uterotrófico, que evalúa los efectos sobre la vía del estrógeno.<sup>12</sup> En la UE, el Modelo de Bioactividad ER de ToxCast se acepta actualmente como fuente de información *in vitro* sobre el mecanismo de acción. Esta información es requerida como parte de la identificación de sustancias como disruptores endocrinos en el marco regulatorio vigente para biocidas y productos fitosanitarios.

En colaboración con otras organizaciones, el Centro Común de Investigación de la UE y la EPA ORD están desarrollando conjuntos de ensayos relevantes basados en el AOP de la tiroidea y evaluando su validez.<sup>13</sup> En 2024, la OCDE incorporó a su plan de trabajo para el desarrollo de directrices dos de estos ensayos dirigidos a diferentes eventos moleculares desencadenantes de la disrupción de la vía tiroidea.

## Referencias

1. Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, et al. EDC-2: The Endocrine Society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocr Rev.* 2015;36(6):1-150.
2. La Merrill MA, Vandenberg LN, Smith MT, et al. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(1):45-57.
3. Kahn LG, Philippat C, Nakayama SF, Slama R, Trasande L. Endocrine-disrupting chemicals: implications for human health. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8(8):703-718.
4. Metcalfe CD, Bayen S, Desrosiers M, et al. An introduction to the sources, fate, occurrence and effects of endocrine disrupting chemicals released into the environment. *Environ Res.* 2022;207:112658.
5. Society for the Advancement of Adverse Outcome Pathways. AOP-Wiki. March 30, 2024. Accessed March 26, 2025. <https://aopwiki.org>
6. OECD. Integrated approaches to testing and assessment (IATA). Accessed January 21, 2025. <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/assessment-of-chemicals/integrated-approaches-to-testing-and-assessment.html>
7. Vandenberg LN, Welshons WV, Vom Saal FS, Tautain PL, Myers JP. Should oral gavage be abandoned in toxicity testing of endocrine disruptors? *Environ Health.* 2014;13(1):46.
8. EURION Policy Brief. June 13, 2024. Accessed December 10, 2024. [https://eurion-cluster.eu/wp-content/uploads/2024/06/EURION-policy-brief\\_June2024.pdf](https://eurion-cluster.eu/wp-content/uploads/2024/06/EURION-policy-brief_June2024.pdf)
9. Browne P, Judson RS, Casey WM, Kleinstreuer NC, Thomas RS. Screening chemicals for estrogen receptor bioactivity using a computational model. *Environ Sci Technol.* 2015;49(14):8804-8814.
10. Kleinstreuer NC, Ceger PC, Allen DG, et al. A curated database of rodent uterotrophic bioactivity. *Environ Health Perspect.* 2016;124(5):556-562.

11. Judson RS, Magpantay FM, Chickarmane V, et al. Integrated model of chemical perturbations of a biological pathway using 18 *in vitro* high-throughput screening assays for the estrogen receptor. *Toxicol Sci.* 2015;148(1):137-154.
12. EPA. Use of high throughput assays and computational tools in the Endocrine Disruptor Screening Program. Updated March 7, 2022. Accessed January 21, 2025. [https://19january2021snapshot.epa.gov/endocrine-disruption/use-high-throughput-assays-and-computational-tools-endocrine-disruptor\\_.html](https://19january2021snapshot.epa.gov/endocrine-disruption/use-high-throughput-assays-and-computational-tools-endocrine-disruptor_.html)
13. Noyes PD, Friedman KP, Browne P, et al. Evaluating chemicals for thyroid disruption: opportunities and challenges with *in vitro* testing and adverse outcome pathway approaches. *Environ Health Perspect.* 2019;127(9):95001.

## Irritación/corrosión ocular

Para evaluar la irritación y la corrosión ocular mediante la prueba de Draize, se aplica una sustancia química en los ojos de los conejos y se monitorea el grado de daño durante 14 días. Los conejos pueden sufrir inflamación ocular, secreción, ulceración, hemorragias, opacidad o ceguera. La prueba de Draize se desarrolló en 1944 y, desde entonces, se han creado métodos de reemplazo avanzados que ofrecen un nivel de confiabilidad igual o superior al de la prueba en conejos. Por ejemplo, un análisis de 491 sustancias químicas con al menos dos pruebas oculares en conejos mostró que la probabilidad de obtener la misma clasificación del Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (GHS) más de una vez fue del 73% para la categoría GHS 1 (causa daño ocular grave), 32,9% para la categoría GHS 2A (irritante), 15,5% para la categoría GHS 2B (irritante leve) y 93,9% para ninguna categoría (no irritante).<sup>1</sup> Es importante destacar que estos resultados mostraron que existía una probabilidad del 10,4% de que una sustancia identificada inicialmente como causante de daño irreversible grave (categoría 1) fuera clasificada después como no irritante (sin categoría).

Existen métodos robustos sin animales que pueden reemplazar completamente la prueba de Draize sin necesidad de juicio experto ni de una evaluación basada en el WoE:

- **Prueba de la OCDE Nro. 492B: Ensayo con epitelio humano reconstruido similar a la córnea (RhCE) para la identificación de peligros oculares.** Puede usarse para identificar sustancias químicas que no requieren clasificación (GHS sin categoría) y aquellas que requieren clasificación por irritación ocular (categoría 2 del GHS) y por daño ocular grave (categoría 1 del GHS).
- **Prueba de la OCDE Nro. 467: Enfoques definidos para daño ocular grave e irritación ocular.** Los enfoques de esta prueba se basan en:
  - a. Propiedades fisicoquímicas y datos *in vitro* de la Prueba de la OCDE Nro. 492 (ensayo con epitelio humano reconstruido similar a la córnea, RhCE) y la Prueba de la OCDE Nro. 437 (método de opacidad y permeabilidad corneal bovina, BCOP) para líquidos puros no tensoactivos.
  - b. Datos *in vitro* de la Prueba de la OCDE Nro. 491 (ensayo *in vitro* de exposición corta, STE) y la Prueba de la OCDE Nro. 437 para líquidos puros y/o diluidos no tensoactivos o sólidos disueltos en agua.



© iStock.com/CreVis2

c. Datos *in vitro* de la Prueba de la OCDE Nro. 437 y la Prueba de la OCDE Nro. 492 para sólidos puros.

Los enfoques definidos pueden usarse para identificar sustancias químicas que no requieren clasificación (GHS sin categoría) y aquellas que requieren clasificación por irritación ocular (categoría 2 del GHS) y por daño ocular grave (categoría 1 del GHS).

Como se describe en la guía de la OCDE sobre un IATA de daño ocular grave e irritación,<sup>2</sup> otros métodos *in vitro* pueden combinarse para reemplazar completamente la prueba de Draize:

- **Prueba de la OCDE Nro. 494: Ensayo Vitrigel-Eye para irritación ocular.** Puede usarse para identificar sustancias químicas que no se clasifican por irritación ocular ni daño ocular grave (GHS sin categoría).
- **Prueba de la OCDE Nro. 496: Ensayo macromolecular *in vitro*.** Puede usarse para identificar sustancias químicas que causan daño ocular grave (categoría 1 del GHS) y/o que no requieren clasificación.
- **Prueba de la OCDE Nro. 460: Ensayo de fuga de fluoresceína.** Puede usarse para identificar sustancias químicas que causan daño ocular grave (categoría 1 del GHS). Se recomienda como paso inicial dentro de un enfoque descendente (*top-down*) para identificar corrosivos o irritantes severos.
- **Prueba de la OCDE Nro. 438: Ensayo con ojo de pollo aislado.** Puede usarse para identificar sustancias químicas que causan daño ocular grave (categoría 1 del GHS) o que no requieren clasificación. Se recomienda como primer paso dentro de una estrategia de ensayo descendente (*top-down*) o ascendente (*bottom-up*).

Estos métodos están generalmente validados para su uso con cosméticos y productos químicos industriales. Algunos métodos serán más apropiados que otros, dependiendo del dominio de aplicabilidad del método, del propósito de la prueba y del tipo de sustancia química (p. ej., tensoactivos o sólidos).

La EPA actualmente acepta el uso de métodos *in vitro* y *ex vivo* para determinar la irritación y la corrosión ocular al clasificar

productos químicos industriales, productos de limpieza antimicrobianos y, previa evaluación, otros productos pesticidas. La Oficina de Prevención de la Contaminación y Sustancias Tóxicas de la EPA publicó en 2024 una guía que desaconseja las pruebas prospectivas de Draize para nuevos productos químicos,<sup>3</sup> y en 2015, la Oficina de Programas de Pesticidas (OPP) publicó una guía que describe las pruebas que la industria puede usar para este parámetro.<sup>4</sup> La OPP también publicó en su página web<sup>5</sup> un artículo –escrito por PETA Science Consortium International y NICEATM, entre otros– que propone enfoques definidos que combinan métodos *in vitro* y *ex vivo* para evaluar el potencial de irritación y corrosión ocular de formulaciones agroquímicas.<sup>6</sup>

## Referencias

1. Luechtefeld T, Maertens A, Russo DP, Rovida C, Zhu H, Hartung T. Analysis of Draize eye irritation testing and its prediction by mining publicly available 2008–2014 REACH data. *ALTEX*. 2016;33(2):123-134.
2. OECD. Guidance document on an integrated approach on testing and assessment (IATA) for serious eye damage and eye irritation. 3<sup>rd</sup> ed. OECD Series on Testing and Assessment. July 2024. Accessed July 18, 2024. <https://doi.org/10.1787/cdb440be-en>
3. EPA. New chemicals program decision framework for hazard identification of eye irritation and corrosion. Accessed July 18, 2024. <https://www.epa.gov/system/files/documents/2024-01/appt-ncd-eye-irritation-framework-frn-final-12-13-2023.pdf>
4. EPA. Alternate testing framework for classification of eye irritation potential of EPA-regulated pesticide products. Updated April 19, 2024. Accessed January 17, 2025. <https://www.epa.gov/pesticide-registration/alternate-testing-framework-classification-eye-irritation-potential-epa>
5. EPA. Strategic vision for adopting new approach methodologies—replacement strategies. Updated April 10, 2024. Accessed January 17, 2025. <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/strategic-vision-adopting-new-approach-2#alternative>
6. Clippinger AJ, Raabe HA, Allen DG, et al. Human-relevant approaches to assess eye corrosion/irritation potential of agrochemical formulations. *Cutan Ocul Toxicol*. 2021;40(2):145-167.

## Genotoxicidad y carcinogenicidad

### Genotoxicidad

Los principales parámetros de genotoxicidad que deben evaluarse con fines regulatorios son la mutación génica, las aberraciones cromosómicas estructurales (clastogenicidad) y las aberraciones cromosómicas numéricas (aneuploidía). Las guías de la OCDE para evaluar la genotoxicidad *in vitro* cubren uno o dos parámetros simultáneamente:

- **Prueba de la OCDE Nro. 471: Ensayo de mutación inversa en bacterias.** Conocido como prueba de Ames, este ensayo usa *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, que requieren aminoácidos, para detectar mutaciones puntuales por sustituciones de bases o desplazamientos del marco de lectura (*frameshifts*).
- **Prueba de la OCDE Nro. 487: Ensayo *in vitro* de micronúcleos.** Puede usarse para detectar micronúcleos en el citoplasma de células en interfase que han experimentado división celular durante o después de la exposición a una sustancia de prueba. Este ensayo detecta aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas.
- **Prueba de la OCDE Nro. 490: Ensayos *in vitro* de mutación génica en células de mamífero usando el gen de la timidina quinasa.** Se pueden usar dos ensayos distintos para detectar mutaciones génicas inducidas por sustancias químicas.

- **Prueba de la OCDE Nro. 473: Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en células de mamífero.** Este ensayo identifica sustancias químicas que causan aberraciones cromosómicas estructurales.
- **Prueba de la OCDE Nro. 476: Ensayo *in vitro* de mutación génica en células de mamífero usando los genes *Hprt* y *xprt*.** Estos ensayos pueden detectar mutaciones génicas inducidas por sustancias químicas.

La evaluación de la genotoxicidad para fines regulatorios generalmente se realiza en etapas, comenzando con una batería básica de pruebas *in vitro* (p. ej., las pruebas de Ames, micronúcleos y aberraciones cromosómicas). La necesidad de complementar las pruebas *in vitro* con pruebas *in vivo* depende de los resultados y de los requisitos regulatorios. Por ejemplo, en el caso de las normativas de la UE sobre productos químicos industriales y biocidas, un resultado positivo en cualquiera de las pruebas *in vitro* requeridas debe ser seguido por una prueba *in vivo*.<sup>12</sup> Sin embargo, si una sustancia produce resultados negativos en las pruebas *in vitro*, puede clasificarse como sin potencial genotóxico y no se requerirían más pruebas de genotoxicidad. Por el contrario, para algunas clases de productos químicos, se exigen pruebas *in vivo* independientemente de los resultados de las pruebas *in vitro* (p. ej., productos fitosanitarios y productos farmacéuticos).<sup>3,4</sup>

Se puede reducir la necesidad de realizar pruebas *in vivo* si se cuenta con datos apropiados provenientes de estudios *in silico* (p. ej., QSAR y *read-across*). Por ejemplo, la base de datos consolidada sobre genotoxicidad y carcinogenicidad de EURL ECVAM, publicada en la colección EURL ECVAM del catálogo de datos del Centro Común de Investigación (JRC), proporciona recursos sustanciales para *read-across*.<sup>5</sup>

Además, los métodos avanzados *in vitro* pueden ofrecer opciones de seguimiento y reducción de riesgos para su uso en un enfoque basado en el WoE. Por ejemplo, el biomarcador transcriptómico *in vitro* sensible a agentes que inducen daño en el ADN (DDI), el TGx-DDI,<sup>6,7</sup> y el ensayo ToxTracker<sup>8-10</sup> pueden proporcionar información sobre el modo de acción de posibles genotóxicos y han sido presentados en programas regulatorios formales de “calificación”.<sup>11,12</sup> Los datos generados mediante el ensayo ToxTracker y *read-across* se han usado en los expedientes REACH de la UE.<sup>13</sup>

Los ensayos de micronúcleos y de cometa en piel tridimensional reconstruida son métodos adicionales sin animales que pueden usarse para dar seguimiento a resultados positivos de los ensayos estándar de genotoxicidad *in vitro* en compuestos administrados por vía dérmica. Estos métodos representan una oportunidad importante para evitar el uso de animales en las pruebas de genotoxicidad.<sup>14,15</sup> Los requisitos de información para la evaluación de genotoxicidad de cosméticos<sup>16</sup> ya pueden incluir la prueba de micronúcleos o de cometa usando piel humana tridimensional reconstruida. Para esta última prueba también se

pueden usar células de mamífero. El rápido progreso en el desarrollo de modelos tridimensionales de hígado y vías respiratorias ofrece la posibilidad de que en un futuro cercano no se usen animales en la evaluación del potencial genotóxico de compuestos administrados por vía oral o inhalatoria.<sup>17</sup>

Los métodos sin animales están ganando terreno a nivel internacional. Generar datos completos basados en estos métodos y desarrollar estudios de caso, como el de la cumarina usada en productos cosméticos, es un componente importante para respaldar la adopción de la evaluación de riesgos de próxima generación.<sup>8,18</sup>

Los estudios de caso IATA sobre genotoxicidad<sup>19</sup> y mutagenicidad<sup>20</sup> de la OCDE<sup>21</sup> ilustran enfoques viables para desarrollar directrices adecuadas de evaluación de la seguridad para determinar el riesgo de genotoxicidad sistémica sin pruebas en animales.

## Referencias

1. ECHA. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.7a: Endpoint specific guidance. Version 6. July 2017. doi:10.2823/337352
2. ECHA. Guidance on the Biocidal Products Regulation. Volume III: Human health, Part A: Information requirements. Version 1.2. May 2018. doi:10.2823/443383
3. Regulation (EC) no 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. November 24, 2009. Accessed March 14, 2025. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2009/1107/oj>
4. ICH. ICH guideline S2 (R1) on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. Updated February 2013. Accessed March 14, 2025. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-s2-r1-genotoxicity-testing-data-interpretation-pharmaceuticals-intended-human-use>
5. Corvi R, Madia F. EURL ECVAM genotoxicity and carcinogenicity consolidated database of Ames positive chemicals. European Commission Joint Research Centre. Updated December 20, 2018. Accessed March 14, 2025. <http://data.europa.eu/89h/jrc-eurl-ecvam-genotoxicity-carcinogenicity-ames>
6. Buick JK, Williams A, Gagné R, et al. Flow cytometric micronucleus assay and TGx-DDI transcriptomic biomarker analysis of ten genotoxic and non-genotoxic chemicals in human HepaRGTM cells. *Genes Environ.* 2020;42(1):5.
7. Li H-H, Youk CL, Chen R, et al. TGx-DDI, a transcriptomic biomarker for genotoxicity hazard assessment of pharmaceuticals and environmental chemicals. *Front Big Data.* 2019;2:36.
8. Baltazar MT, Cable S, Carmichael PL, et al. A next-generation risk assessment case study for coumarin in cosmetic products. *Toxicol Sci.* 2020;176(1):236-252.
9. Hendriks G, Derr RS, Misovic B, Moralli B, Calleja FM, Vrieling H. The extended ToxTracker assay discriminates between induction of DNA damage, oxidative stress, and protein misfolding. *Toxicol Sci.* 2016;150(1):190-203.
10. Hendriks G, Atallah M, Moralli B, et al. The ToxTracker assay: Novel GFP reporter systems that provide mechanistic insight into the genotoxic properties of chemicals. *Toxicol Sci.* 2012;125(1):285-298.
11. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Letter to HESI Committee on Genomics. Subject: Biomarker Letter of Support. October 24, 2017. Accessed March 14, 2025. <https://www.fda.gov/media/112682/download>
12. OECD. Work plan for the Test Guidelines Programme (TGP). July 2021. Accessed January 22, 2025. <https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/topics/policy-sub-issues/testing-of-chemicals/work-plan-test-guidelines-2024.pdf>
13. European Chemicals Agency (ECHA). N,N,4-trimethylpiperazine-1-ethylamine [substance information]. ECHA website. Accessed January 22, 2025. <https://chem.echa.europa.eu/100.002.894/overview?searchText=N,N,4-trimethylpiperazine-1-ethylamine>
14. Pfuhrer S, Pirow R, Downs TR, et al. Validation of the 3D reconstructed human skin comet assay, an animal-free alternative for following-up positive results from standard in vitro genotoxicity assays. *Mutagenesis.* 2021;36(1):19-35.
15. Pfuhrer S, Downs TR, Hewitt NJ, et al. Validation of the 3D reconstructed human skin micronucleus (RSMN) assay: an animal-free alternative for following-up positive results from standard in vitro genotoxicity assays. *Mutagenesis.* 2021;36(1):1-17.
16. Bernauer U, Bodin L, Chaudhry Q, et al. The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation, 11<sup>th</sup> revision, March 30–31, 2021. *SCCS/1628/21. Regul Toxicol Pharmacol.* 2021;127:105052.
17. Pfuhrer S, van Benthem J, Curren R, et al. Use of in vitro 3D tissue models in genotoxicity testing: strategic fit, validation status and way forward. Report of the working group from the 7<sup>th</sup> International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT). *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2020;850-851:503135.
18. Moxon TE, Li H, Lee MY, et al. Application of physiologically based kinetic (PBK) modelling in the next generation risk assessment of dermally applied consumer products. *Toxicol In Vitro.* 2020;63:104746.

19. OECD. Case study on grouping and read-across for nanomaterials—genotoxicity of nano-TiO<sub>2</sub>. OECD Series on Testing and Assessment. No. 292. Organisation for Economic Co-operation and Development; 2018. Accessed January 22, 2025. [https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(2018\)28/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2018)28/en/pdf)
20. OECD. Case study on the use of integrated approaches for testing and assessment for in vitro mutagenicity of 3,3'-dimethoxybenzidine (DMOB) based direct dyes. OECD Series on Testing and Assessment. No. 251. Organisation for Economic Co-operation and Development; 2016. Accessed January 22, 2025. [https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(2016\)49/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2016)49/en/pdf)
21. OECD. Report on considerations from case study on integrated approaches for testing and assessment (IATA). OECD Series on Testing and Assessment. No. 350. Organisation for Economic Co-operation and Development; 2023. Accessed January 22, 2025. [https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO\(2023\)31/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)31/en/pdf)

## Carcinogenicidad

La evaluación de la carcinogenicidad a menudo requiere realizar pruebas en ratas y/o ratones durante la mayor parte de su vida (hasta dos años). La prueba requiere un mínimo de 400 ratas y/o ratones por cada evaluación química (Pruebas de la OCDE Nro. 451, 452 y 453).

Aunque los estudios de carcinogenicidad en animales todavía se realizan de manera rutinaria, la prueba ha estado bajo escrutinio científico desde principios de la década de 1970 por su falta de reproducibilidad<sup>1</sup> y su incapacidad para predecir resultados en humanos.<sup>2</sup> Cabe destacar que existen dos supuestos erróneos que subyacen a estos bioensayos: (1) los carcinógenos en roedores son carcinógenos en humanos, y (2) la exposición a dosis altas en roedores indica una dosis ambientalmente relevante. Los datos de carcinogenicidad producidos en los últimos 50 años han demostrado que ambos supuestos son incorrectos. Décadas de revisiones científicas resaltan la falta general de confiabilidad de los bioensayos de cáncer en roedores para predecir cáncer en humanos.<sup>2-7</sup>

Por ejemplo, un programa de la UE evaluó 202 revisiones de plaguicidas y demostró que el estudio de carcinogenicidad en ratones aportó poco o nada a la determinación de una ingesta diaria aceptable para la evaluación del riesgo crónico en humanos y la clasificación de peligros con fines de etiquetado.<sup>8</sup> En cuanto a las aprobaciones de plaguicidas, los autores mostraron que el estudio en ratones no influyó en ningún resultado. Un estudio adicional señaló que los datos recopilados de 182 sustancias farmacéuticas muestran que se obtiene poco valor del estudio de



carcinogenicidad cuando los compuestos carecen de ciertos factores de riesgo histopatológicos, alteraciones hormonales y resultados positivos en pruebas de toxicidad genética.<sup>9</sup> Este estudio se usó para respaldar un grupo internacional que desarrolló un enfoque basado en WoE para cumplir algunos de los requisitos de la prueba de carcinogenicidad sin el ensayo de dos años en ratas.<sup>10,11</sup> El trabajo de este grupo dio lugar a un apéndice de la directriz para la evaluación de carcinogenicidad de productos farmacéuticos (ICH S1B) que brinda la oportunidad de evitar el uso de 400 animales por cada evaluación regulatoria farmacéutica.<sup>12</sup> Un proyecto similar, denominado Rethinking Chronic Toxicity and Carcinogenicity Assessment for Agrochemicals Project (ReCAAP) y liderado por PETA Science Consortium International, desarrolló un marco para respaldar una evaluación basada en WoE de plaguicidas sin pruebas de carcinogenicidad a largo plazo en ratas y ratones.<sup>13</sup> El marco ReCAAP ha sido aceptado para su publicación por el Grupo de Trabajo de la OCDE para la Evaluación de Peligros (WPHA), mediante el cual ocho organismos reguladores globales respaldaron el enfoque basado en WoE para satisfacer las necesidades de evaluación de seguridad, sin realizar pruebas de por vida en ratas y ratones.<sup>14</sup>

Además, se están llevando a cabo actividades para desarrollar un marco para evaluar la carcinogenicidad de sustancias químicas no genotóxicas, incluidas las iniciativas del grupo de expertos sobre carcinógenos no genotóxicos (NGTxC) del Grupo de Trabajo para el Programa de Directrices de Ensayo (WNT) de la OCDE. Este marco ofrece un enfoque modular para evaluar e integrar datos *in vitro* e *in silico* en un estilo de AOP para determinar la bioactividad que podría conducir a la carcinogenicidad.<sup>15</sup>

El WNT también está evaluando los ensayos de transformación celular *in vitro* (CTA) por su capacidad para reproducir un proceso multietapa que modele algunos aspectos de la carcinogénesis *in vivo*. El CTA tiene el potencial de detectar tanto carcinógenos genotóxicos como no genotóxicos.<sup>16</sup> En su recomendación sobre el CTA basado en la línea celular Bhas 42, EURL ECVAM señala que la información sobre el potencial transformador de las sustancias generada por los CTA puede ser suficiente para la toma de decisiones.<sup>17</sup> Tras un estudio en el que el CTA Bhas 42 se probó con 98 sustancias, incluidos carcinógenos humanos conocidos, la OCDE recomendó que este ensayo se use como parte de una estrategia de pruebas para ayudar a evaluar sustancias potencialmente cancerígenas.<sup>18,19</sup> Cuando se combina con otra información, como datos de genotoxicidad, análisis de estructura-actividad e información toxicocinética, los CTA en general, y el CTA Bhas 42 en particular, pueden contribuir a la evaluación del potencial carcinogénico y ofrecer una alternativa a las pruebas *in vivo*.<sup>20,21</sup>

Varios modelos y herramientas computacionales ayudan además a evaluar el potencial de carcinogenicidad. Las alertas estructurales que señalan posibles carcinógenos no genotóxicos se han incorporado en la herramienta OECD QSAR Toolbox.<sup>22</sup> Además, la EPA publicó OncoLogic™, un modelo informático para evaluar el

potencial carcinogénico de sustancias químicas.<sup>23</sup> También existen opciones comerciales, como las de Lhasa Limited, MultiCASE, UL Cheminformatics e Instem. En última instancia, la identificación de sustancias químicas reactivas con el ADN mediante la prueba de Ames o alertas estructurales genotóxicas puede combinarse con la identificación de carcinógenos no genotóxicos mediante alertas estructurales, dejando a los CTA modelar la mayor parte de lo que queda sin explicar en un enfoque basado en WoE.

Dada la complejidad de la carcinogénesis, los expertos reconocen que es necesario integrar nuevos enfoques (p. ej., *in silico* o *in vitro*) para respaldar una evaluación de seguridad adecuada basada en WoE.<sup>24</sup> Por fortuna, se están llevando a cabo iniciativas para facilitar la integración de métodos y lograr, finalmente, una evaluación de carcinogenicidad sin animales, rápida y relevante para humanos en la regulación química y farmacéutica.<sup>13,16,25,26</sup>

## Referencias

- Gottmann E, Kramer S, Pfahringer B, Helma C. Data quality in predictive toxicology: reproducibility of rodent carcinogenicity experiments. *Environ Health Perspect*. 2001;109(5):509-514.
- Boobis AR, Cohen SM, Dellarco VL, et al. Classification schemes for carcinogenicity based on hazard-identification have become outmoded and serve neither science nor society. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016;82:158-166.
- Cohen SM, Klauing J, Meek ME, et al. Evaluating the human relevance of chemically induced animal tumors. *Toxicol Sci*. 2004;78(2):181-186.
- Gori GB. Regulatory forum opinion piece: long-term animal bioassays: is the end near? *Toxicol Pathol*. 2013;41(5):805-807.
- Osimitz TG, Droegge W, Boobis AR, Lake BG. Evaluation of the utility of the lifetime mouse bioassay in the identification of cancer hazards for humans. *Food Chem Toxicol*. 2013;60:550-562.
- Bourcier T, McGovern T, Stavitskaya L, Kruhlik N, Jacobson-Kram D. Improving prediction of carcinogenicity to reduce, refine, and replace the use of experimental animals. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2015;54(2):163-169.
- Cohen SM. The relevance of experimental carcinogenicity studies to human safety. *Curr Opin Toxicol*. 2017;3:6-11.
- Billington R, Lewis RW, Mehta JM, Dewhurst I. The mouse carcinogenicity study is no longer a scientifically justifiable core data requirement for the safety assessment of pesticides. *Crit Rev Toxicol*. 2010;40(1):35-49.
- Sistare FD, Morton D, Alden C, et al. An analysis of pharmaceutical experience with decades of rat carcinogenicity testing: support for a proposal to modify current regulatory guidelines. *Toxicol Pathol*. 2011;39(4):716-744.
- ICH. The ICHS1 regulatory testing paradigm of carcinogenicity in rats: status report. March 2, 2016. Accessed April 4, 2025. [https://database.ich.org/sites/default/files/S1\\_StatusReport\\_2019\\_0802.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/S1_StatusReport_2019_0802.pdf)
- ICH. The ICHS1 regulatory testing paradigm of carcinogenicity in rats: status report 2019. Accessed March 14, 2025. [https://database.ich.org/sites/default/files/S1\\_StatusReport\\_2019\\_0802.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/S1_StatusReport_2019_0802.pdf)
- ICH. Addendum to the guideline on testing for carcinogenicity of pharmaceuticals S1B(R1). Final version. Adopted on August 4, 2022. Accessed December 10, 2024. [https://database.ich.org/sites/default/files/S1B-R1\\_FinalGuideline\\_2022\\_0719.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/S1B-R1_FinalGuideline_2022_0719.pdf)
- Hilton GM, Adcock C, Akerman G, et al. Rethinking chronic toxicity and carcinogenicity assessment for agrochemicals project (ReCAAP): a reporting framework to support a weight of evidence safety assessment without long-term rodent bioassays. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2022;131:105160.
- OECD. Case study on the use of integrated approaches for testing and assessment (IATA) for chronic toxicity and carcinogenicity of agrochemicals with exemplar case studies—ninth review cycle (2023). OECD Series on Testing and Assessment, No. 402. September 24, 2024. Accessed January 17, 2025. <https://doi.org/10.1787/c3b90c37-en>
- Louekari K, Jacobs MN. A modular strategy for the testing and assessment of non-genotoxic carcinogens. *Arch Toxicol*. 2024;98(8):2463-2485.
- Jacobs MN, Colacci A, Corvi R, et al. Chemical carcinogen safety testing: OECD expert group international consensus on the development of an integrated approach for the testing and assessment of chemical non-genotoxic carcinogens. *Arch Toxicol*. 2020;94(8):2899-2923.
- JRC, Institute for Health and Consumer Protection. EURL ECVAM recommendation on the cell transformation assay based on the Bhas 42 cell line. Publications Office of the European Union; 2013. Accessed March 14, 2025. <http://dx.doi.org/10.2788/42908>
- Stokes W, Jacobs A. Bhas 42 cell transformation assay validation study report. OECD. July 30, 2012. Accessed August 25, 2022. [http://www.oecd.org/env/ehs/testing/Text\\_Bhas\\_Validation\\_Study\\_Report.pdf](http://www.oecd.org/env/ehs/testing/Text_Bhas_Validation_Study_Report.pdf)
- Sakai A, Sasaki K, Hayashi K, et al. An international validation study of a Bhas 42 cell transformation assay for the prediction of chemical carcinogenicity. *Mutat Res*. 2011;725(1-2):57-77.
- Benigni R, Bossa C. Alternative strategies for carcinogenicity assessment: an efficient and simplified approach based on *in vitro* mutagenicity and cell transformation assays. *Mutagenesis*. 2011;26(3):455-460.

21. OECD. Guidance document on the *in vitro* Bhas 42 cell transformation assay. OECD Series on Testing and Assessment, No. 231. July 20, 2017. Accessed January 17, 2025. [https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(2016\)1/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2016)1/en/pdf)
22. OECD. OECD QSAR toolbox. Accessed March 14, 2025. <https://www.oecd.org/en/data/tools/oecd-qsar-toolbox.html>
23. EPA. OncoLogic™—an expert system to evaluate the carcinogenic potential of chemicals. Updated December 5, 2024. Accessed January 17, 2025. <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/oncologicm-computer-system-evaluate-carcinogenic-potential-chemicals>
24. Felton SP, Bhat VS, Botham PA, et al. Assessing chemical carcinogenicity: hazard identification, classification, and risk assessment. Insight from a Toxicology Forum state-of-the-science workshop. *Crit Rev Toxicol*. 2021;51(8):653-694.
25. Lujten M, Corvi R, Mehta J, et al. A comprehensive view on mechanistic approaches for cancer risk assessment of non-genotoxic agrochemicals. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020;118:104789.
26. Stallford SA, Cayley AN, Fowkes A, de Oliveira AAF, Xanthis I, Barber CG. Structuring expert review using AOPs: enabling robust weight-of-evidence assessments for carcinogenicity under ICH S1B(R1). *Comput Toxicol*. 2024;31:100320.

© iStock.com/greenleaf123



## Fototoxicidad

Las sustancias que absorben luz en el rango UV y visible (290 a 700 nm) y que pueden llegar a la piel o a los ojos podrían requerir pruebas para determinar su potencial fototoxicidad o la respuesta tóxica a una sustancia administrada por vía tópica o sistémica que ocurre tras exponerse a la luz. La fototoxicidad puede causar síntomas que van desde quemaduras de primer grado (enrojecimiento, picazón y dolor) hasta quemaduras de tercer grado. La fototoxicidad, también llamada fotosensibilidad, es un efecto adverso bien conocido de muchos medicamentos, incluidos los antimicrobianos, antiinflamatorios no esteroideos, diuréticos y agentes quimioterapéuticos.<sup>1</sup>

Las pruebas de fototoxicidad para compuestos administrados por vía sistémica o tópica se han realizado en diversas especies, como cobayos, ratones y ratas. Sin embargo, no se ha establecido un diseño de estudio *in vivo* validado o estandarizado.<sup>2,3</sup> En cambio, hasta ahora se han desarrollado tres directrices de prueba de la OCDE usando métodos *in chemico* e *in vitro* para evaluar la fototoxicidad:

- **Prueba de la OCDE Nro. 495: Ensayo de especies reactivas de oxígeno (ROS) para fotorreactividad.** Este método *in chemico* mide la capacidad de una sustancia para generar especies reactivas de oxígeno bajo exposición a la luz solar artificial.

- **Prueba de la OCDE Nro. 432: Ensayo *in vitro* 3T3 NRU de fototoxicidad.** Esta prueba mide la viabilidad de una línea celular de ratón incubada con un potencial fototóxico y expuesta a la luz.
- **Prueba de la OCDE Nro. 498: Fototoxicidad *in vitro*. Método de ensayo de fototoxicidad con epidermis humana reconstruida.** En esta prueba, un modelo tridimensional de epidermis humana reconstruida se incuba con el potencial fototóxico y se expone a la luz.

Esta última prueba (Nro. 498) se basa en un principio similar al de la Nro. 432, pero usa un modelo tridimensional de piel humana reconstruida en lugar de la línea celular de ratón. Esto amplía el dominio de aplicabilidad a una mayor selección de sustancias, incluidas formulaciones finales, mezclas complejas o parches dermatológicos.<sup>4</sup> Las sustancias con un pH extremo también pueden evaluarse con modelos tridimensionales de piel.

De acuerdo con el Documento de Orientación de la OCDE sobre el IATA para determinar la fototoxicidad, estas directrices pueden combinarse con otras evaluaciones fisicoquímicas y métodos *in vitro* e *in silico*, sin animales, para estimar el potencial fototóxico de una sustancia.<sup>2</sup>

## Referencias

1. Pharmacy Times. Drug-induced photosensitivity: focus on antibiotics. *Pharmacy Times*. August 24, 2016. Accessed March 14, 2025. <https://www.pharmacytimes.com/view/drug-induced-photosensitivity-focus-on-antibiotics>
2. OECD. Guidance document on integrated approaches to testing and assessment (IATA) for phototoxicity testing. OECD Series on Testing and Assessment, No. 397. September 19, 2024. Accessed December 10, 2024. <https://doi.org/10.1787/8a979653-en>
3. EMA. ICH Guidance S10 on photosafety evaluation of pharmaceuticals. August 25, 2015. Accessed March 14, 2025. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/ich-guideline-s10-photosafety-evaluation-pharmaceuticals-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/regulatory-procedural-guideline/ich-guideline-s10-photosafety-evaluation-pharmaceuticals-step-5_en.pdf)
4. OECD. Test No. 498: *In vitro* phototoxicity—reconstructed human epidermis phototoxicity test method. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. June 14, 2021. Accessed March 14, 2025. <https://doi.org/10.1787/7b2f9ea0-en>

## Pirogenicidad

Las agencias reguladoras exigen pruebas para demostrar que determinados medicamentos y dispositivos médicos no están contaminados con sustancias que desencadenan una respuesta febril. Estas sustancias, denominadas pirógenos, son química y estructuralmente diversas, pero suelen causar fiebre en humanos mediante un mecanismo común: los monocitos y macrófagos de la sangre periférica detectan los pirógenos y liberan citocinas proinflamatorias que inducen un aumento de la temperatura corporal. Existen dos métodos *in vitro* disponibles para detectar pirógenos:

- **Ensayo de activación de monocitos (MAT)**, definido en el capítulo general 2.6.30 de la Farmacopea Europea (*Ph. Eur.*) y permitido en el capítulo general 151 de la Farmacopea de Estados Unidos (USP).
- **Ensayo con Factor C recombinante (rFC)**, definido en el capítulo general 2.6.32 de la *Ph. Eur.* y, a partir de mayo de 2025, en el capítulo general 86 de la USP.

Aunque el mecanismo de la respuesta febril humana se conoce bien, aún es frecuente que las instancias reguladoras globales requieran dos pruebas en animales para evaluar la contaminación por pirógenos. En la prueba de pirógenos en conejos (RPT), se inyecta a los animales una sustancia de prueba y luego se les inmoviliza durante tres horas, tiempo en el que se monitorean los cambios en su temperatura corporal de forma rectal. Solo en la UE y Noruega, más de 125 mil conejos fueron usados entre 2018 y 2022 en la RPT.<sup>1</sup> Algunos países parecen haber dejado de usar la RPT. Sin embargo, Francia y España usaron más de 6 mil animales cada uno en la RPT en 2022, a pesar de que nunca se ha validado formalmente la relevancia de esta prueba para los humanos y sus resultados pueden variar según el nivel de estrés del animal. También existen diferencias en la sensibilidad a los pirógenos entre especies y la prueba es incompatible con ciertas clases de medicamentos.<sup>2</sup>

La prueba de lisado de amebocitos de *Limulus* (LAL) requiere el uso de hemolinfa de cangrejos herradura capturados y solo detecta endotoxinas bacterianas, no otros pirógenos. Después del proceso de sangrado, hasta el 30% de los cangrejos muere y aquellos que se recuperan tienen menos probabilidades de sobrevivir en la naturaleza.<sup>3</sup> Una versión sintética del LAL, en la que la hemolinfa se reemplaza por un reactivo recombinante (el ensayo rFC), está disponible para detectar endotoxinas bacterianas. El ensayo rFC es una prueba confiable y respetuosa con los animales, con un desempeño igual o superior al de la prueba LAL.<sup>4</sup>

Desde 2010, el ensayo *in vitro* de activación de monocitos (MAT), capaz de detectar tanto pirógenos endotóxicos como no endotóxicos, ha sido validado e incluido en la *Ph. Eur.*<sup>5</sup> En el MAT, los medicamentos y dispositivos médicos se incuban con sangre humana entera o monocitos humanos aislados. Después de este período de exposición, se miden las citocinas proinflamatorias liberadas por los monocitos.<sup>6</sup> El MAT evita los problemas mencionados anteriormente con las pruebas RPT y LAL y, como se ha documentado en estudios de caso, este ensayo ha detectado contaminación por pirógenos en productos que habían pasado las pruebas RPT y LAL pero causaron fiebre en pacientes humanos.<sup>7</sup>

Los reguladores en India, la UE, el Reino Unido y EE. UU., así como las farmacopeas usadas en estas regiones, permiten el uso del MAT y del rFC tras la validación para un producto específico. No obstante, las pruebas en animales siguen realizándose a pesar de que sus limitaciones se han documentado a profundidad.<sup>8</sup> Para eliminar el uso de animales en las pruebas de pirógenos, las entidades regulatorias y las organizaciones de normalización deben esforzarse más para integrar y armonizar una preferencia por las pruebas sin animales en los requisitos internacionales y para alentar a los fabricantes de medicamentos y dispositivos a usar y presentar datos de estas pruebas en sus solicitudes de aprobación. En septiembre de 2018, los participantes en un taller organizado por PETA Science

© iStock.com/BlackJack3D



Consortium Internacional y NICEATM discutieron enfoques sin animales para las pruebas de pirógenos en dispositivos médicos y solicitaron más oportunidades de capacitación y educación para aumentar el uso del MAT con fines regulatorios.<sup>9</sup>

Tras una encuesta a usuarios de pruebas de pirógenos, la Dirección Europea de Calidad de Medicamentos y Atención Sanitaria (EDQM) revisó el capítulo general de la *Ph. Eur.* sobre el MAT para hacerlo más accesible y enfatizar que se considera un reemplazo de las pruebas de pirógenos en animales.<sup>10,11</sup> La Agencia Europea de Medicamentos también ha aprobado el MAT<sup>12</sup> y la Comisión de la *Ph. Eur.* eliminó la RPT de la *Ph. Eur.* en 2025.<sup>15</sup> La Organización Internacional de Normalización (ISO) está revisando su guía para permitir el uso del MAT para evaluar la contaminación por pirógenos en dispositivos médicos, pero el proceso de revisión ha avanzado lentamente.<sup>6</sup> En la octava edición de la Farmacopea India, la Comisión de la Farmacopea India revisó el capítulo general sobre pruebas de pirógenos, introdujo la monografía sobre el MAT y reemplazó la RPT por LAL.<sup>14</sup> Sin embargo, debido a la falta de claridad y la ambigüedad regulatoria sobre la aplicabilidad del MAT como prueba independiente de pirógenos, la RPT y el LAL continúan usándose.

## Referencias

1. European Commission. Summary report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the member states of the European Union and Norway in 2022. Table 20: Number of uses for pyrogenicity testing per country between 2018 and 2022. Accessed September 18, 2024. <https://circabc.europa.eu/ui/group/8ee3c69a-bccb-4f22-89ca-277e35de7c63/library/051e5787-7746-46cf-8a0d-310f84fd1900/details?download=true>
2. Hartung T, Borel A, Schmitz G. Detecting the broad spectrum of pyrogens with the human whole-blood monocyte activation test. *Bioprocess Int.* 2016;14(3):38-56.
3. Anderson RL, Watson WH, Chobot CC. Sublethal behavioral and physiological effects of the biomedical bleeding process on the American horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Biol Bull.* 2013;225(3):137-151.
4. Piehler M, Roeder R, Blessing S, Reich J. Comparison of LAL and rFC assays—participation in a proficiency test program between 2014 and 2019. *Microorganisms.* 2020;8(3):418.
5. EDQM. Monocyte-activation test. European Pharmacopoeia 6.7, Chapter 2.6.30. Strasbourg, France: Council of Europe; 2010.
6. Fenrich S, Hennig U, Taliashvili L, Schlenzak C, Wendel HP, Stoppelkamp S. More than 70 years of pyrogen detection: current state and future perspectives. *Altern Lab Anim.* 2016;44(3):239-253.



7. Hasiwa N, Doneshian M, Bruegger P, et al. Evidence for the detection of non-endotoxin pyrogens by the whole ... blood monocyte activation test. *ALTEX*. 2013;30(2):169-208.
8. FDA. Guidance for industry. Pyrogen and endotoxins testing: questions and answers. June 2012. Accessed March 14, 2025. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM310098.pdf>
9. Brown J, Clippinger AJ, Fritz Briglia C, et al. Using the monocyte activation test as a stand-alone release test for medical devices. *ALTEX*. 2021;38(1):151-156.
10. EDQM. Monocyte-activation test. *Pharmeuropa*. 2016;27(4):15-26.
11. EDQM. European Pharmacopoeia Commission adopts revised general chapter on monocyte-activation test to facilitate reduction in testing on laboratory animals. June 23, 2016. Accessed January 17, 2025. <https://www.edqm.eu/en/d/183809>
12. EMA Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. Reflection paper providing an overview of the current regulatory testing requirements for veterinary medicinal products and opportunities for implementation of the 3Rs. 2016. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2016/04/WC500205609.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2016/04/WC500205609.pdf)
13. EDQM. Pyrogenicity, general chapter 5.1.13. Ph. Eur. Supplement 11.8. Strasbourg, France: Council of Europe; 2025. [https://extranet.edqm.eu/4DLink1/Web\\_mono\\_hist?50113](https://extranet.edqm.eu/4DLink1/Web_mono_hist?50113)
14. Indian Pharmacopoeia Commission. Monocyte activation test. *Indian Pharmacopoeia*. 8<sup>th</sup> ed. General Chapter Monograph 2.2.25.

## Toxicidad reproductiva y del desarrollo

Los estudios de toxicidad reproductiva y del desarrollo miden el efecto de una sustancia química en los órganos reproductivos y en la descendencia en desarrollo durante el embarazo.

Los estudios de toxicidad del desarrollo para la evaluación de la seguridad de productos químicos y farmacéuticos para los humanos se realizan principalmente en ratas. Sin embargo, muchos marcos regulatorios, incluidas las normativas sobre productos biocidas y fitosanitarios y, en algunas circunstancias, REACH en la UE, exigen que los solicitantes presenten resultados de pruebas en una segunda especie, generalmente conejos, bajo el supuesto de que existen diferencias entre especies en la sensibilidad a los efectos sobre el desarrollo. Estas pruebas usan un gran número de animales. Por ejemplo, un estudio estimó que el número total de animales usados para los parámetros reproductivos y de desarrollo en los expedientes de registro

existentes de la base de datos pública de la ECHA (a diciembre de 2022) es aproximadamente 2,7 millones.<sup>1</sup>

Ninguno de los métodos *in vivo* usados para evaluar la toxicidad reproductiva y del desarrollo ha sido validado formalmente por su relevancia para los humanos,<sup>2</sup> y las evaluaciones retrospectivas han encontrado limitaciones significativas y subjetividad en la interpretación de los datos.<sup>3,4</sup> Por lo tanto, se requiere una inversión considerable para desarrollar métodos sin animales que sean relevantes para los humanos. Recientemente, se incluyeron 42 AOP del AOP-wiki relevantes para la toxicidad reproductiva en mamíferos en una red de AOP para la toxicidad reproductiva mediada por estrógenos, andrógenos y esteroidogénesis. Estas AOPs abarcan efectos sobre niveles o actividad hormonal, cáncer, sistemas reproductivos masculino y femenino, y efectos generales sobre la fertilidad y la reproducción.<sup>5</sup>

Debido al amplio conocimiento sobre los eventos clave de la toxicidad reproductiva y del desarrollo, se han desarrollado muchos ensayos y baterías de pruebas prometedoras. El proyecto EU ReProTect, que tenía como objetivo desarrollar métodos innovadores para evaluar la toxicidad reproductiva, demostró que una batería de varias pruebas *in vitro* e *in silico*, incluida la prueba con células madre embrionarias, podía proporcionar información valiosa sobre efectos adversos durante el desarrollo embrionario.<sup>6</sup> Un ensayo novedoso basado en biomarcadores de células madre humanas, ReproTracker<sup>®</sup>, identifica el potencial teratogénico de las sustancias químicas.<sup>7</sup> Además, se desarrolló una batería de pruebas que incluye el ensayo de activación transcripcional CALUX (para actividad esteroideogénica), el ensayo ReProGlo (para el patrón del eje corporal y la especificación del destino celular), la prueba con células madre embrionarias (para diferenciación en cardiomiocitos) y el ensayo de embriotoxicidad en pez cebra.<sup>8</sup>

Asimismo, el proyecto EU-ToxRisk integra avances en biología celular, tecnología “ómica”, biología de sistemas y modelado computacional para definir las cadenas complejas de eventos que vinculan la exposición química con los resultados tóxicos. El proyecto se centra en la toxicidad sistémica por dosis repetidas y en la toxicidad reproductiva y del desarrollo. El Centro Nacional de Toxicología Computacional de la EPA también explora el potencial de las sustancias químicas para alterar el desarrollo prenatal mediante el uso de su modelo virtual de embrión, v-Embryo<sup>™</sup>, que integra enfoques de modelado *in vitro* e *in silico*.<sup>9</sup> La OCDE, el JRC, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y la EPA han desarrollado recomendaciones que demuestran que la integración de una batería de ensayos *in vitro* puede usarse para determinar el potencial de neurotoxicidad de las sustancias químicas en el desarrollo, y las agencias asociadas están trabajando en estudios de caso que se aplican a diferentes clases de sustancias químicas.<sup>10-12</sup> Un estudio comparó los puntos de partida basados en bioactividad *in vitro* (POD<sup>Bioactivity</sup>) con los puntos de partida de estudios orales de dosis repetidas, desarrollo y reproducción (POD<sup>Traditional</sup>) usados en la

evaluación de riesgos. Para 43 de las 46 sustancias químicas examinadas, el  $POD_{Bioactivity}$  fue más conservador que el valor más bajo del  $POD_{Traditional}$ , lo que indica que la bioactividad *in vitro* puede usarse como una estimación sustituta del límite inferior de los niveles de efectos adversos *in vivo*, ya que sería al menos tan protectora como usar  $POD_{Traditional}$ .<sup>12</sup>

Si bien el campo avanza gradualmente hacia una gama de estrategias integradoras para cubrir la mayoría de los mecanismos posibles, se requiere mucha más investigación.

## Referencias

1. Rovida C, Busquet F, Leist M, Hartung T. REACH out-numbered! The future of REACH and animal numbers. *ALTEX*. 2023;40(3):367-388.
2. Rovida C, Longo F, Rabbit RR. How are reproductive toxicity and developmental toxicity addressed in REACH dossiers? *ALTEX*. 2011;28(4):273-294.
3. Beekhuizen M, Richmond E, Manton J, et al. Review of dose setting for the extended one-generation reproductive toxicity studies (OECD TG 443): considerations on ECHA's dose level selection recommendations. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2024;151:105665.
4. van den Heuvel C, Klaver N, Tonk I, Coder P, Beekhuizen M. Is there any added value of the second generation in the Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study (EOGRS)? A retrospective analysis of 24 EOGRS. *Reprod Toxicol*. 2023;122:108493.
5. Ziliacus J, Draskau MK, Johansson HKL, Svungen T, Beronius A. Building an adverse outcome pathway network for estrogen-, androgen- and steroidogenesis-mediated reproductive toxicity. *Front Toxicol*. 2024;6:1357717.
6. Schenk B, Weimer M, Bremer S, et al. The ReProtect Feasibility Study, a novel comprehensive *in vitro* approach to detect reproductive toxicants. *Reprod Toxicol*. 2010;30(1):200-218.
7. Jamalpoor A, Hartvelt S, Dimopoulou M, et al. A novel human stem cell-based biomarker assay for *in vitro* assessment of developmental toxicity. *Birth Defects Res*. 2022;114(19):1210-1228.
8. van der Burg B, Pieterse B, Buist H, et al. A high throughput screening system for predicting chemically-induced reproductive organ deformities. *Reprod Toxicol*. 2015;55:95-103.
9. EPA. Virtual and complex tissue modeling. Updated October 21, 2024. Accessed January 17, 2025. <https://www.epa.gov/chemical-research/virtual-tissue-modeling-0>
10. Sachana M, Shafer TJ, Terron A. Toward a better testing paradigm for developmental neurotoxicity: OECD efforts and regulatory considerations. *Biology (Basel)*. 2021;10(2):86.
11. OECD. Initial recommendations on evaluation of data from the developmental neurotoxicity (DNT) *in vitro* testing battery. OECD Series on Testing and Assessment, No. 377. November 3, 2023. Accessed December 10, 2024. <https://doi.org/10.1787/91964ef3-en>
12. Health Canada. Science Approach Document—Bioactivity Exposure Ratio: application in priority setting and risk assessment. March 2021. Accessed January 28, 2022. <https://www.canada.ca/en/environment-climate-change/services/evaluating-existing-substances/science-approach-document-bioactivity-exposure-ratio-application-priority-setting-risk-assessment.html>

## Irritación/corrosión cutánea

Varias agencias reguladoras requieren o recomiendan realizar pruebas de irritación y corrosión cutánea para sustancias químicas. En la prueba en animales, se aplica la sustancia a evaluar sobre la piel rasurada de un conejo y se observa durante 14 días para evaluar el grado de daño cutáneo. Las pruebas pueden causar daño permanente en la piel, úlceras, sangrado, costras y cicatrices.

Los estudios de irritación cutánea en animales se han usado durante años, a pesar de que se ha demostrado que, en general, son predictores deficientes de las reacciones cutáneas humanas y altamente variables.<sup>2</sup> Por ejemplo, un estudio que comparó datos de pruebas en conejos y pruebas de parche cutáneo de cuatro horas en humanos para 65 sustancias encontró que el 45% de las clasificaciones del potencial irritante químico basadas en pruebas en animales eran incorrectas.<sup>2</sup>

Con base en los criterios descritos en la guía Nro. 237 de la OCDE, existen oportunidades para evitar las pruebas en animales.<sup>3</sup>

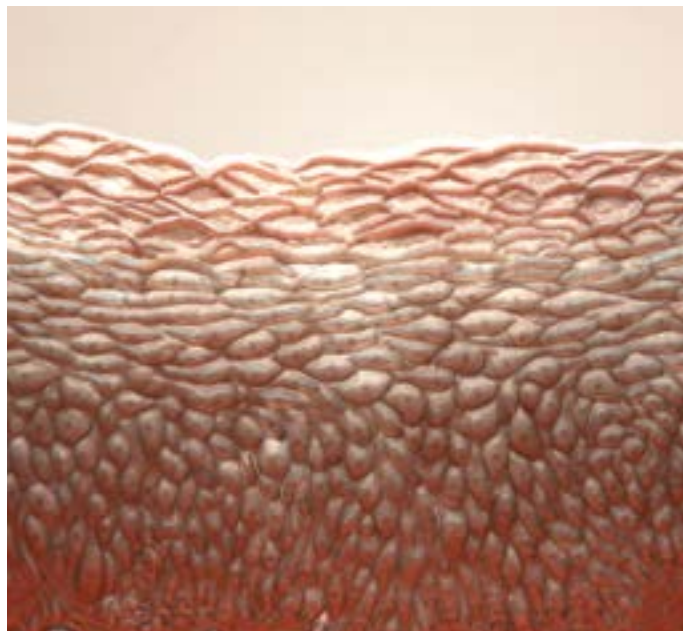
Además, la OCDE ha desarrollado un IATA para irritación cutánea con métodos *in vitro* que evitan o minimizan el uso de animales.<sup>4</sup>

- **Prueba de la OCDE Nro. 439: Ensayo *in vitro* de irritación cutánea con epidermis humana reconstruida (RHE).** Esta prueba puede usarse para la identificación del peligro asociado con sustancias y mezclas químicas irritantes de categoría 2 o no clasificadas, de acuerdo con el GHS. Puede usarse como prueba independiente o en una estrategia escalonada.
- **Prueba de la OCDE Nro. 431: Ensayo de corrosión cutánea *in vitro* con RHE.** Esta prueba puede usarse para identificar sustancias y mezclas químicas corrosivas, así como para distinguir entre corrosivos cutáneos graves y menos graves.
- **Prueba de la OCDE Nro. 435: Ensayo *in vitro* de barrera de membrana para corrosión cutánea.** Esta prueba permite clasificar las sustancias químicas corrosivas en una de las tres subcategorías de corrosividad del GHS.

Recientemente, la guía de prueba Nro. 439 de la OCDE fue validada para su uso en la evaluación de la capacidad de los extractos de dispositivos médicos para causar irritación cutánea, y la guía ISO 10993 se ha actualizado para incluir esta prueba.<sup>5</sup>

## Referencias

1. Rooney JP, Choksi NY, Ceger P, et al. Analysis of variability in the rabbit skin irritation assay. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2021;122:104920.
2. Robinson MK, Cohen C, de Fraissinette AB, Ponce M, Whittle E, Fentem JH. Non-animal testing strategies for assessment of the skin corrosion and skin irritation potential of ingredients and finished products. *Food Chem Toxicol*. 2002;40(5):573-592.
3. OECD. Guidance document on considerations for waiving or bridging of mammalian acute toxicity tests. OECD Series on Testing and Assessment, No. 237. April 13, 2017. Accessed January 17, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264274754-en>
4. OECD. Guidance document on an integrated approach on testing and assessment (IATA) for skin corrosion and irritation. OECD Series on Testing and Assessment, No. 203. April 13, 2017. Accessed January 17, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264274693-en>
5. ISO. ISO 10993-23:2021 Biological evaluation of medical devices—part 23: Tests for irritation. 2021. Accessed March 17, 2025. <https://www.iso.org/standard/74151.html>



## Sensibilización cutánea

La evaluación de la sensibilización cutánea mide la probabilidad de que una sustancia cause una reacción alérgica si se aplica sobre la piel. La prueba en animales implica inyectarles a cobayos la sustancia a evaluar o aplicarla sobre su piel rasurada, en lo que se conoce como prueba de maximización en cobayos, o aplicarla en las orejas de ratones en el ensayo del ganglio linfático local.

El requisito regulatorio para evaluar la sensibilización cutánea puede cumplirse mediante un enfoque definido, tal como se describe en la Prueba de la OCDE Nro. 497 (enfoques definidos para la sensibilización cutánea), usando una combinación de ensayos *in chemico* e *in vitro* que abordan diferentes eventos clave en la AOP.<sup>1</sup> El enfoque definido “2 de 3” proporciona información suficiente para la identificación del peligro, y las pruebas integradas (ITSv1 e ITSv2) recopilan información de dos de los ensayos *in vitro* listados a continuación y predicciones *in silico* del peligro y la potencia.

- **Prueba de la OCDE Nro. 442C: Ensayos de sensibilización cutánea *in chemico* que abordan el evento clave de la AOP sobre la unión covalente a proteínas.** Esta prueba aborda el evento molecular inicial de la AOP de sensibilización cutánea.
- **Prueba de la OCDE Nro. 442D: Ensayos de sensibilización cutánea *in vitro* que abordan el evento clave de la AOP sobre la activación de queratinocitos.** Esta prueba aborda el segundo evento clave de la AOP de sensibilización cutánea.
- **Prueba de la OCDE Nro. 442E: Ensayos de sensibilización cutánea *in vitro* que abordan el evento clave sobre la activación de células dendríticas.** Esta prueba aborda el tercer evento clave de la AOP de sensibilización cutánea.

Cuando se comparan con datos provenientes de humanos, los enfoques sin animales para predecir la sensibilización cutánea son tan buenos o mejores que el ensayo del ganglio linfático local.<sup>2</sup>

### Referencias

1. OECD. Guideline No. 497: Defined approaches on skin sensitisation. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. July 4, 2023. Accessed December 10, 2024. <https://doi.org/10.1787/b92879a4-en>
2. Hoffmann S, Kleinstreuer N, Alépée N, et al. Non-animal methods to predict skin sensitization (I): the Cosmetics Europe database. *Crit Rev Toxicol*. 2018;48(5):344-358.

## Toxicidad sistémica

### Toxicidad sistémica aguda

Para determinar el peligro de la exposición a un producto o sustancia química, se administra la sustancia a animales por vía oral, dérmica o inhalatoria. La toxicidad aguda se refiere a los efectos adversos observados después de una exposición única a un nivel elevado de una sustancia durante un período corto (hasta 24 horas). En estas pruebas se determina la dosis en la que moriría la mitad de los animales, denominada dosis letal 50 (DL50) o concentración letal 50 (CL50) para pruebas por

inhalación. La prueba DL50 y sus adaptaciones nunca han sido validadas científicamente y su precisión para predecir los efectos químicos en humanos sigue siendo cuestionable. Un análisis de la variabilidad de la prueba animal de toxicidad oral aguda mostró que la exactitud para obtener la misma clasificación de la EPA o del GHS, respectivamente, es del 78% o 74% cuando la misma sustancia química se prueba más de una vez.<sup>1</sup> Otro análisis de datos existentes de DL50 oral aguda demostró que los estudios replicados resultan en la misma categorización de peligro en promedio el 60% de las veces.<sup>2</sup> Este análisis también demostró que la variabilidad biológica o del protocolo subyacente probablemente explica la variación en los resultados.

Cuando se proporciona justificación científica, las autoridades regulatorias pueden permitir la evaluación de toxicidad aguda sin pruebas en animales. La OCDE ha publicado directrices para la exención o la integración de pruebas de toxicidad aguda,<sup>3</sup> y la EPA ha publicado guías similares para plaguicidas y pesticidas.<sup>4</sup> Esto incluye el uso de datos existentes para *read-across* y la consideración de las propiedades fisicoquímicas de la sustancia de prueba.<sup>5,6</sup>

### Referencias

1. Kleinstreuer NC, Karmaus AL, Mansouri K, Allen DG, Fitzpatrick JM, Patlewicz G. Predictive models for acute oral systemic toxicity: a workshop to bridge the gap from research to regulation. *Comput Toxicol*. 2018;8:21-24.
2. Karmaus AL, Mansouri K, To KT, et al. Evaluation of variability across rat acute oral systemic toxicity studies. *Toxicol Sci*. 2022;188(1):34-47.
3. OECD. Guidance document on considerations for waiving or bridging of mammalian acute toxicity tests. OECD Series on Testing and Assessment, No. 237. April 13, 2017. Accessed January 17, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264274754-en>
4. EPA OPP. Guidance for waiving or bridging of mammalian acute toxicity tests for pesticides and pesticide products (acute oral, acute dermal, acute inhalation, primary eye, primary dermal, and dermal sensitization). March 1, 2012. Accessed January 17, 2025. <https://www.epa.gov/sites/default/files/documents/acute-data-waiver-guidance.pdf>
5. Strickland J, Haugbrooks E, Allen DG, et al. International regulatory uses of acute systemic toxicity data and integration of new approach methodologies. *Crit Rev Toxicol*. 2023;53(7):385-411.
6. Borba JVB, Alves VM, Braga RC, et al. *StoPtox: An in silico alternative to animal testing for acute systemic and topical toxicity*. *Environ Health Perspect*. 2022;130(2):27012.

### Toxicidad sistémica por dosis repetidas

En los estudios de toxicidad por dosis repetidas, los animales son expuestos reiteradamente a sustancias durante un mes (subaguda), tres meses (subcrónica) o varios años (crónica) para medir los efectos de múltiples exposiciones a sustancias químicas, las cuales suelen administrarse a los animales mediante una sonda (*gavage*), a menos que se prevea que los humanos estarán más expuestos por otra vía. Como ocurre con otros parámetros, la evidencia muestra que los estudios regulatorios que usan animales para evaluar la toxicidad por dosis repetidas no cumplen adecuadamente su propósito y, por ello, existe una clara necesidad de desarrollar nuevos enfoques. Dos estudios publicados en 2020 evaluaron las fuentes de variabilidad en los valores usados para derivar niveles seguros de exposición a partir de pruebas de dosis repetidas en roedores y encontraron que aproximadamente un tercio de la variación total no podía explicarse a partir de diferencias en los protocolos, por ejemplo, la vía de administración.<sup>1,2</sup>

La evaluación de la toxicidad por dosis repetidas es un requisito estándar en las evaluaciones de seguridad para los humanos. Aunque los enfoques *read-across* son aceptados con fines regulatorios, otros métodos sin animales aún no han logrado una aceptación completa. Para abordar esta brecha en el uso de métodos sin animales, diversos proyectos en los ámbitos académico, industrial y regulatorio han propuesto conjuntos variados de ensayos *in vitro* e *in silico* basados en tecnologías “ómicas” y de alto contenido y rendimiento. Estas iniciativas se centran en desarrollar métodos de prueba sin animales para derivar puntos de partida *in vitro*, predecir concentraciones plasmáticas máximas o calcular tasas de exposición a la bioactividad.<sup>3-6</sup> Un estudio de caso de la OCDE sobre el uso de un IATA para la toxicidad sistémica demuestra la aplicación de estas metodologías avanzadas.<sup>7</sup>

Mientras continúan desarrollándose e implementándose sistemas de prueba *in vitro* en el ámbito regulatorio, el número de animales usados en pruebas de toxicidad por dosis repetidas bajo diversos marcos normativos puede reducirse inmediatamente mediante la extrapolación de puntos de partida de estudios subcrónicos a estudios crónicos.<sup>2</sup> Una revisión de los puntos de partida (NOAELs o LOAELs) determinados a partir de estudios *in vivo* de aditivos alimentarios mostró que los valores crónicos pueden extrapolarse de manera confiable a partir de estudios subcrónicos, respaldando análisis previos de otros tipos de sustancias, incluidos productos químicos industriales y plaguicidas. La evaluación del riesgo y la derivación de valores de referencia basados en la salud pueden fortalecerse aún más con la aplicación precautoria de un factor adicional de incertidumbre de 2 para tener en cuenta cualquier valor atípico, lo cual recomiendan la EFSA y varios estudios recientes.<sup>8</sup>

## Referencias

1. Pham LL, Watford SM, Pradeep P, et al. Variability in *in vivo* studies: defining the upper limit of performance for predictions of systemic effect levels. *Comput Toxicol*. 2020;15:100126.
2. Guth S, Roth A, Engeli B, et al. Comparison of points of departure between subchronic and chronic toxicity studies on food additives, food contaminants and natural food constituents. *Food Chem Toxicol*. 2020;146:111784.
3. Zabl W, Bitsch A, Blum J, et al. Protectiveness of NAM-based hazard assessment—which testing scope is required? *ALTEX*. 2024;41(2):302-319.
4. Middleton AM, Reynolds J, Cable S, et al. Are non-animal systemic safety assessments protective? A toolbox and workflow. *Toxicol Sci*. 2022;189(1):124-147.
5. Reardon AJF, Farmahin R, Williams A, et al. From vision toward best practices: evaluating *in vitro* transcriptomic points of departure for application in risk assessment using a uniform workflow. *Front Toxicol*. 2023;5:1194895.
6. Hatherell S, Baltazar MT, Reynolds J, et al. Identifying and characterizing stress pathways of concern for consumer safety in next-generation risk assessment. *Toxicol Sci*. 2020;176(1):11-33.
7. OECD. Case study on use of an integrated approach for testing and assessment (IATA) for systemic toxicity of phenoxyethanol when included at 1% in a body lotion. OECD Series on Testing and Assessment, No. 349. October 27, 2021. Accessed December 10, 2024. [https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO\(2021\)35/En/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2021)35/En/pdf)
8. EFSA Scientific Committee. Guidance on selected default values to be used by the EFSA scientific committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. *EFSA J*. 2012;10(3):1-32.

## Vía oral

NICEATM y el Comité Interinstitucional de Coordinación para la Validación de Métodos Alternativos (ICCVAM) llevaron a cabo un proyecto para desarrollar modelos predictivos de toxicidad

sistémica oral aguda.<sup>1</sup> El resultado fue la herramienta Collaborative Acute Toxicity Modelling Suite (CATMoS), que predice la toxicidad oral aguda y satisface diversos requisitos normativos.<sup>2</sup> Esta herramienta generó 139 modelos predictivos con datos de aproximadamente 12.000 sustancias químicas y, tras ponderar el desempeño de cada uno de estos, se construyó un modelo combinado. CATMoS se implementa a través de la aplicación Open Structure-Activity/Property Relationship (OPERA), una herramienta QSAR de código abierto y acceso gratuito.<sup>3</sup> Este modelo se optimiza y evalúa con frecuencia<sup>4</sup> y las actualizaciones están disponibles en los sitios web de NICEATM Integrated Chemical Environment (ICE) y la EPA.<sup>5</sup> PETA Science Consortium International, PCRM y la EPA desarrollaron seminarios web sobre la herramienta CATMoS y la base de datos ICE ([ThePSCI.eu/training-videos-webinars](http://ThePSCI.eu/training-videos-webinars)).

EURL ECVAM recomienda el ensayo *in vitro* de citotoxicidad 3T3 con absorción de rojo neutro (NRU), que puede emplearse en un enfoque WoE para respaldar la identificación de sustancias no clasificadas.<sup>6</sup> Además, EURL ECVAM investigó cómo aumentar la confianza en el ensayo 3T3 NRU mediante el uso de QSAR y considerando información sobre el órgano diana y la falta de metabolismo en las células 3T3.<sup>7-9</sup>

En su Guía sobre los requisitos de información y la evaluación de la seguridad química, ECHA indica que se puede evitar un estudio *in vivo* de toxicidad oral aguda si el solicitante dispone de datos relevantes dentro de un enfoque WoE.<sup>10</sup> En los casos en que la adaptación mediante WoE lleve a asumir una toxicidad oral aguda baja o nula (>2000 mg/kg de peso corporal/día), el solicitante puede evitar las pruebas en animales de acuerdo con los artículos 13(1) y 25(1) de REACH.<sup>11</sup> Más información sobre cómo reducir el número de animales usados para evaluar la toxicidad oral aguda en el marco de REACH se encuentra en [ThePSCI.eu/training-videos-webinars](http://ThePSCI.eu/training-videos-webinars).

## Referencias

1. Kleinstreuer NC, Karmous AL, Mansouri K, Allen DG, Fitzpatrick JM, Patlewicz G. Predictive models for acute oral systemic toxicity: a workshop to bridge the gap from research to regulation. *Comput Toxicol*. 2018;8:21-24.
2. NICEATM. Predictive models for acute oral systemic toxicity. 2018. Accessed December 10, 2024. [https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/niceatm/test-method-evaluations/acute-systemic-tox/models/index.html?utm\\_source=direct&utm\\_medium=prod&utm\\_campaign=ntpgolinks&utm\\_term=tox-models](https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/niceatm/test-method-evaluations/acute-systemic-tox/models/index.html?utm_source=direct&utm_medium=prod&utm_campaign=ntpgolinks&utm_term=tox-models)
3. Mansouri K, Grulke CM, Judson RS, Williams AJ. OPERA models for predicting physicochemical properties and environmental fate endpoints. *J Cheminform*. 2018;10(1):10.
4. Bishop PL, Mansouri K, Eckel WP, et al. Evaluation of *in silico* model predictions for mammalian acute oral toxicity and regulatory application in pesticide hazard and risk assessment. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2024;149:105614.
5. National Toxicology Program. Integrated chemical environment (ICE). Accessed March 26, 2025. <https://ice.ntp.niehs.nih.gov>
6. Prieto P, Burton J, Graepel R, Price A, Whelan M, Worth A. EURL ECVAM strategy to replace, reduce and refine the use of animals in the assessment of acute mammalian systemic toxicity. Publications Office of the European Union; 2014.
7. Hamm J, Sullivan K, Clippinger AJ, et al. Alternative approaches for identifying acute systemic toxicity: moving from research to regulatory testing. *Toxicol In Vitro*. 2017;41:245-259.
8. Prieto P, Kinsner-Ovaskainen A, Stanzel S, et al. The value of selected *in vitro* and *in silico* methods to predict acute oral toxicity in a regulatory context: results from the European Project ACuteTox. *Toxicol In Vitro*. 2013;27(4):1357-1376.
9. Prieto P, Graepel R, Gerloff K, et al. Investigating cell type specific mechanisms contributing to acute oral toxicity. *ALTEX*. 2019;36(1):39-64.
10. ECHA. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.7a: Endpoint specific guidance. Version 6. July 2017. doi:10.2823/337352



11. Commission Regulation (EU) 2016/863 of 31 May 2016 amending Annexes VII and VIII to Regulation (EC) No. 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards skin corrosion/irritation, serious eye damage/eye irritation and acute toxicity. Accessed March 26, 2025. <http://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/863/oj>

## Vía dérmica

La EPA y el NICEATM analizaron las contribuciones relativas de los datos de las pruebas agudas de toxicidad oral y dérmica a la clasificación y al etiquetado de los riesgos asociados con los plaguicidas. Dado que se determinó que los datos dérmicos aportaban poco o ningún valor adicional en la toma de decisiones regulatorias, la EPA publicó una guía que permite a los solicitantes presentar una justificación científica sólida para demostrar que los resultados de la prueba oral aguda son protectores frente a posibles efectos dérmicos agudos.<sup>1,2</sup> Además, no se requieren estudios dérmicos para sustancias que no están clasificadas para la vía oral y que no se absorben por vía dérmica.<sup>3</sup> Asimismo, de acuerdo con el Anexo VIII de REACH, las sustancias no clasificadas para la vía oral no requieren datos dérmicos.

## Referencias

1. EPA OPP. Guidance for waiving acute dermal toxicity tests for pesticide formulations and supporting retrospective analysis. November 9, 2016. Accessed March 26, 2025. [https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-11/documents/acute-dermal-toxicity-pesticide-formulations\\_0.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-11/documents/acute-dermal-toxicity-pesticide-formulations_0.pdf)
2. EPA OPP. Guidance for waiving acute dermal toxicity tests for pesticide technical chemicals and supporting retrospective analysis. December 31, 2020. Accessed March 26, 2025. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2021-01/documents/guidance-for-waiving-acute-dermal-toxicity.pdf>
3. OECD. Guidance document on considerations for waiving or bridging of mammalian acute toxicity tests. OECD Series on Testing and Assessment, No. 237. April 13, 2017. Accessed January 17, 2025. <https://doi.org/10.1787/9789264274754-en>

## Vía inhalatoria

Las pruebas por vía inhalatoria pueden evitarse con base en parámetros fisicoquímicos (p. ej., baja volatilidad) o si la exposición por inhalación es improbable (p. ej., en casos en los que la sustancia no se vuelva aerosol ni sea respirable bajo las condiciones de uso). Cuando se requiere realizar pruebas, se pueden usar métodos sin animales para cumplir con los requisitos de información. Por ejemplo, la EPA aceptó el uso de una prueba de biosolubilidad *in chemico*, que mostró que un polímero, inicialmente clasificado como una sustancia de baja solubilidad y toxicidad, era soluble en un fluido pulmonar epitelial simulado y, por lo tanto, no representaba riesgo por sobrecarga pulmonar.<sup>1</sup> Asimismo, en lugar de un estudio de inhalación de 90 días en ratas, la EPA aceptó datos de modelado *in silico* de dinámica de fluidos y pruebas *in vitro* con tejidos pulmonares humanos tridimensionales reconstruidos para cumplir con los requisitos de renovación de registro de un pesticida.<sup>2,3</sup> Además, se están llevando a cabo otras investigaciones prometedoras para desarrollar métodos sin animales para la toxicidad por inhalación.<sup>4</sup>

PETA Science Consortium International ha organizado numerosos seminarios web (ThePSCI.eu/inhalation-webinars) y talleres sobre varios enfoques que eventualmente podrían reemplazar las pruebas en animales para este parámetro,<sup>5,6</sup> ha financiado el desarrollo de métodos y ha implementado mecanismos de apoyo para proporcionar equipos y tejidos respiratorios *in vitro* para realizar estudios de toxicidad por inhalación.<sup>7</sup> En ThePSCI.eu/our-



work/inhalation se puede encontrar más información sobre las pruebas de toxicidad por inhalación.

## Referencias

1. EPA. Revocation of significant new use rule for a certain chemical substance (P-16-581). 85 FR 52274. August 25, 2020 (to be codified at 40 CFR 721).
2. EPA. Chlorothalonil: Revised human health draft risk assessment for registration review. May 21, 2021. Accessed March 26, 2025. <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPP-2011-0840-0080>
3. OECD. Case study on the use of an integrated approach for testing and assessment (IATA) for new approach methodology (NAM) for refining inhalation risk assessment from point of contact toxicity of the pesticide, chlorothalonil. OECD Series on Testing and Assessment, No. 367. September 1, 2022. Accessed January 17, 2025. [https://one.oecd.org/document/env/cbc/mono\(2022\)31/en/pdf](https://one.oecd.org/document/env/cbc/mono(2022)31/en/pdf)
4. Clippinger AJ, Allen D, Behrsing H, et al. Nonanimal approaches to assessing the toxicity of inhaled substances: current progress and future promise. *Appl In Vitro Toxicol*. 2018;4(2):82-88.
5. Clippinger AJ, Allen D, Jarabek AM, et al. Alternative approaches for acute inhalation toxicity testing to address global regulatory and non-regulatory data requirements: an international workshop report. *Toxicol In Vitro*. 2018;48:53-70.
6. Clippinger AJ, Allen D, Behrsing H, et al. Pathway-based predictive approaches for non-animal assessment of acute inhalation toxicity. *Toxicol In Vitro*. 2018;52:131-145.
7. Barosova H, Maione AG, Septiadi D, et al. Use of EpiAlveolar lung model to predict fibrotic potential of multiwalled carbon nanotubes. *ACS Nano*. 2020;14(4):3941-3956.

## Métodos de producción en laboratorio

En esta sección se detallan oportunidades para poner fin al uso de productos derivados de animales con fines científicos o médicos y para reducir significativamente el uso de animales en la producción de medicamentos y vacunas.

## Producción de anticuerpos

Los reactivos de afinidad, como los anticuerpos, son herramientas esenciales usadas en la investigación para unirse a una molécula con el fin de identificarla o influir en su actividad. Cada año, millones de animales son inyectados con virus, bacterias u otras sustancias extrañas y luego asesinados para obtener los anticuerpos que producen en respuesta. Los animales usados en la producción de anticuerpos son sometidos a numerosos procedimientos invasivos y dolorosos, incluyendo la inyección de antígenos y la recolección repetida de sangre o ascitis, antes de ser asesinados. Los animales usados en el método de ascitis no pueden comer, caminar o respirar adecuadamente. Varios países, incluidos Australia, Canadá, Alemania, los Países Bajos, Suiza y el Reino Unido, han restringido o prohibido la producción de anticuerpos obtenidos mediante el método de ascitis debido a su impacto negativo en el bienestar animal.<sup>1,2</sup>

También hay una creciente preocupación por la falta de calidad y reproducibilidad de los anticuerpos derivados de animales, que a menudo muestran baja especificidad o no logran reconocer sus objetivos. En un comentario publicado en *Nature* en 2015, 111 científicos de los ámbitos académico e industrial abogaron por un cambio internacional hacia anticuerpos recombinantes para aumentar la confiabilidad y reducir la variabilidad entre lotes en los reactivos de afinidad.<sup>3</sup> En el mismo año, una publicación en *Nature* señaló que los anticuerpos podrían ser la herramienta de laboratorio que más contribuye a la “crisis de reproducibilidad”.<sup>4</sup> De hecho, los anticuerpos mal caracterizados y mal definidos se consideraron una de las principales causas de la falta de reproducibilidad en un análisis de estudios preclínicos que encontró que 47 de 53 estudios no pudieron ser replicados.<sup>9</sup> Además, un análisis sistemático de 185 anticuerpos monoclonales derivados de hibridoma y disponibles en el mercado encontró que 59 de estos no eran monoespecíficos, como se esperaría en términos de confiabilidad, y como una solución sencilla y económica a este grave problema, recomendó reemplazar los anticuerpos monoclonales derivados de animales por anticuerpos recombinantes con secuencia definida.<sup>5</sup> Este problema no se limita a los anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos policlonales, que dependen del animal usado para producirlos y, por definición, varían en su composición, no pueden reproducirse de manera consistente, lo que ha llevado a la comunidad científica a pedir que se eliminen completamente de la investigación.<sup>3</sup>

Además de la falta de confiabilidad científica y el impacto negativo en el bienestar animal, el uso de anticuerpos derivados de animales plantea importantes problemas económicos. Se estima que cada año se desperdician aproximadamente 800 millones de dólares en todo el mundo en anticuerpos poco fiables.<sup>3</sup> Usar reactivos de afinidad de mayor calidad podría implicar un ahorro en los costos asociados con estudios reproducibles.

Los reactivos de afinidad sin animales, como los anticuerpos recombinantes, pueden usarse en todas las aplicaciones tradicionales de anticuerpos, incluyendo la investigación básica, las pruebas regulatorias y el ámbito clínico. Estos reactivos están disponibles en el mercado y, con los recursos adecuados, pueden ser desarrollados por los investigadores en sus propios laboratorios.<sup>1,6</sup> Las numerosas ventajas científicas de los reactivos de afinidad sin animales sobre los anticuerpos derivados de animales incluyen alta afinidad y especificidad, menor tiempo de generación, reducción de la inmunogenicidad, posibilidad de controlar las condiciones de selección y capacidad de generarse contra antígenos inestables, tóxicos, inmunosupresores y no inmunogénicos.<sup>1,6</sup>

A nivel internacional, se ha enfatizado la importancia de una transición a gran escala de los anticuerpos derivados de animales hacia reactivos de afinidad no derivados de animales. En su Recomendación sobre anticuerpos no derivados de animales, publicada en 2020, EURL ECVAM declaró lo siguiente:

EURL ECVAM recomienda que los animales ya no se usen para el desarrollo y la producción de anticuerpos destinados a aplicaciones de investigación, regulación, diagnóstico y terapéuticas. ...Los países de la UE ya no deberían autorizar el desarrollo y la producción de anticuerpos mediante inmunización animal cuando falte una justificación científica robusta y legítima.<sup>7</sup>

En EE. UU., expertos y organizaciones, incluyendo NICEATM y PETA Science Consortium International, están trabajando para aumentar el acceso a reactivos de afinidad sin animales. En diciembre de 2019, ambas organizaciones convocaron una reunión para esbozar un plan para acelerar la producción y el uso de dichos reactivos y así mejorar la calidad y la reproducibilidad de la investigación y las pruebas regulatorias. El informe de esta reunión describe los pasos necesarios para lograr la adopción de reactivos de afinidad sin animales y con secuencia definida.<sup>8</sup> En [ThePSCI.eu/our-work/antibodies](https://www.thepsci.eu/our-work/antibodies) encontrará más información sobre fuentes de reactivos de afinidad sin animales, seminarios web, publicaciones y detalles sobre las ventajas científicas, económicas y éticas de reemplazar los anticuerpos derivados de animales por opciones sin animales.

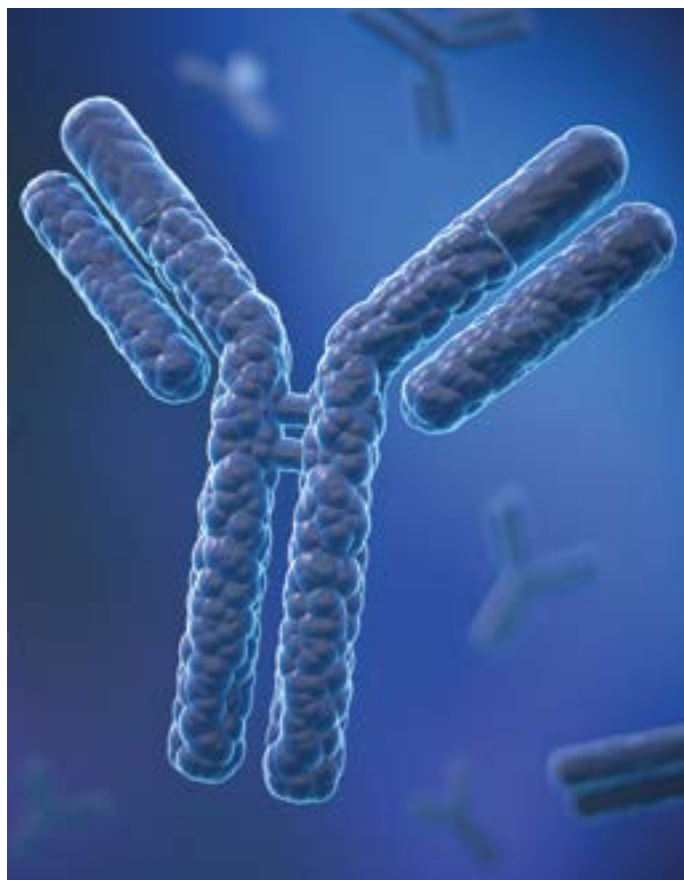
Los gobiernos tienen la oportunidad de impulsar la ciencia comprometiéndose a desarrollar, producir e importar anticuerpos sin animales y a prohibir los anticuerpos monoclonales producidos mediante el método de ascitis. En 2022, PETA Science Consortium International, PCRM y Alternatives Research and Development Foundation lanzaron el Desafío de Anticuerpos Recombinantes, con el cual ofrecieron apoyo financiero para obtener anticuerpos recombinantes para su uso en investigación y pruebas regulatorias ([ThePSCI.eu/funding/recombinant-antibody-challenge](https://www.thepsci.eu/funding/recombinant-antibody-challenge)). Para acelerar aún más el reemplazo de anticuerpos derivados de animales, recomendamos ofrecer oportunidades adicionales de financiación para la generación y el uso de reactivos de afinidad sin animales.

## Referencias

1. Groff K, Brown J, Clippinger AJ. Modern affinity reagents: recombinant antibodies and aptamers. *Biotechnol Adv*. 2015;33(8):1787-1798.
2. Research Councils UK, National Centre for Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. Animal welfare standards expected of suppliers of antibodies to Research Council establishments. NC3Rs. Accessed March 26, 2025. <https://www.nc3rs.org.uk/sites/default/files/documents/Funding/Antibody%20supplier%20policy%20-%20will%20be%20updated.pdf>
3. Bradbury A, Plückthun A. Reproducibility: standardize antibodies used in research. *Nature*. 2015;518(7537):27-29.
4. Baker M. Reproducibility crisis: blame it on the antibodies. *Nature*. 2015;521(7552):274-276.
5. Bradbury ARM, Trinklein ND, Thie H, et al. When monoclonal antibodies are not monospecific: hybridomas frequently express additional functional variable regions. *MAbs*. 2018;10(4):539-546.
6. Gray AC, Sidhu SS, Chandrasekera PC, Hendriksen CFM, Borrebaeck CAK. Animal-friendly affinity reagents: replacing the needless in the haystack. *Trends Biotechnol*. 2016;34(12):960-969.
7. European Commission, JRC, Barroso J, Halder M, Whelan M. EURL ECVAM recommendation on non-animal-derived antibodies. Publications Office of the European Union; 2020. Accessed March 27, 2025. <https://data.europa.eu/doi/10.2760/80554>
8. Groff K, Allen D, Casey W, Clippinger A. Increasing the use of animal-free recombinant antibodies. *ALTEX*. 2020;37(2):309-311.
9. Begley CG, Ellis LM. Drug development: raise standards for preclinical cancer research. *Nature*. 2012;483(7391):531-533.

## Medicamentos biológicos

Muchas vacunas y otros medicamentos biológicos se producen o prueban para verificar su calidad, identidad, seguridad y eficacia en experimentos que requieren grandes cantidades de animales. Estos procedimientos a menudo causan un sufrimiento severo



antes de que los animales mueran o sean asesinados. Los métodos para producir y probar estos medicamentos sin usar animales están cada vez más disponibles, pero la experiencia ha demostrado que la validación y la aceptación regulatoria de estos métodos no han garantizado su uso.<sup>1-5</sup> Las actividades destinadas a eliminar gradualmente el uso de animales en este contexto deben garantizar que las agencias reguladoras y la industria se comprometan a: (1) hacer la transición hacia plataformas de producción de medicamentos biológicos sin animales; (2) desarrollar sustitutos sin animales para las pruebas de calidad, identidad, seguridad y eficacia de todos los medicamentos biológicos; y (3) asegurar que, siempre que estén disponibles, los métodos sin animales se usen de manera consistente en lugar de pruebas en animales.

Existen plataformas de producción que reemplazan las sustancias derivadas de animales por equivalentes recombinantes basados en células. Por ejemplo, las antitoxinas se han producido históricamente aislando inmunoglobulinas de la sangre de caballos y otros mamíferos grandes con hiperinmunización previa. Estas inmunoglobulinas derivadas de animales presentan desventajas intrínsecas a su origen animal, incluyendo el riesgo de una respuesta inmune adversa en humanos, la alta variabilidad entre lotes y la posibilidad de transmitir patógenos entre especies. Las antitoxinas derivadas de animales pueden reemplazarse por antitoxinas humanas recombinantes expresadas en cultivo celular. Se han comercializado varios anticuerpos recombinantes,<sup>6-7</sup> y hay más en desarrollo,<sup>8</sup> incluyendo anticuerpos terapéuticos humanos recombinantes creados con financiación de PETA Science Consortium International.<sup>9,10</sup>

Con los fondos adecuados y el apoyo de las agencias reguladoras, todos los medicamentos biológicos de origen animal, incluidos los anticuerpos (descritos anteriormente), pueden y deben ser reemplazados para resolver los problemas inherentes al uso de anticuerpos derivados de animales.

Existen pruebas sin animales para evaluar la calidad, pero no hay un mecanismo formal que garantice que las barreras para su implementación se resuelvan de manera oportuna.<sup>1</sup> En algunos casos, como ocurre con las pruebas *in vitro* de potencia de la vacuna contra *Leptospira*, los fabricantes han señalado la dificultad para cumplir con los criterios técnicos para usar métodos validados sin animales.<sup>11</sup> En otros casos, como sucede con la prueba *in vitro* de potencia de la vacuna contra la rabia, los reguladores internacionales aún no han acordado los criterios técnicos para usar métodos sin animales.<sup>12</sup> Sin una supervisión formal de la implementación, se espera que estas barreras se resuelvan de manera informal mediante talleres y soluciones descentralizadas por consorcios de partes interesadas, lo que resulta en un proceso muy costoso y lento. Como consecuencia, la adopción de métodos sin animales por parte de la industria sigue siendo limitada.<sup>13</sup> Otras barreras para la implementación de pruebas alternativas disponibles para muchos medicamentos

biológicos humanos y veterinarios se han discutido ampliamente en talleres y en la literatura.<sup>14-16</sup> Es crucial acelerar y estandarizar los procesos que faciliten el uso de estos métodos de reemplazo existentes.

Estas barreras se pueden superar si las agencias reguladoras garantizan la coordinación entre los organismos internacionales y la industria respecto a las mejores prácticas. Dado que las políticas de producción estrictamente controladas constituyen la base de muchas estrategias de reemplazo de animales, las autoridades deben establecer los requisitos armonizados correspondientes.<sup>17,18</sup>

## Referencias

1. Dozier S, Brown J, Currie A. Bridging the gap between validation and implementation of non-animal veterinary vaccine potency testing methods. *Animals (Basel)*. 2011;1(4):414-432.
2. Draayer H. Overview of currently approved veterinary vaccine potency testing methods and methods in development that do not require animal use. *Procedia Vaccinol*. 2011;5:171-174.
3. Bristow A, Schulster D, Jeffcoate S. Report of an international workshop on assays, standardization and labelling requirements of somatotropin. *Pharmeuropa*. 1994;6:60-67.
4. EDQM. Harmonisation with VICH Guidelines 41 and 44 and deletion of the TABST, adopted at the 142<sup>nd</sup> session of the European Pharmacopoeia Commission. *Pharmeuropa*. 2012;S7:1-5.
5. Winsnes R, Sesardic D, Daas A, Terao E, Behr-Gross ME. Collaborative study on a guinea pig serological method for the assay of acellular pertussis vaccines. *Pharmeu Bio Sci Notes*. 2009;127-40.
6. FDA. FDA authorizes REGEN-COV monoclonal antibody therapy for post-exposure prophylaxis (prevention) for COVID-19. August 10, 2021. Accessed March 26, 2025. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-authorizes-regen-cov-mono-clonal-antibody-therapy-post-exposure-prophylaxis-prevention-covid-19>
7. FDA. FDA authorizes bamlanivimab and etesevimab monoclonal antibody therapy for post-exposure prophylaxis (prevention) for COVID-19. September 16, 2021. Accessed March 26, 2025. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-authorizes-bamlanivimab-and-etesevimab-mono-clonal-antibody-therapy-post-exposure-prophylaxis>
8. Alfaleh MA, Alsaab HD, Mahmoud AB, et al. Phage display derived monoclonal antibodies: from bench to bedside. *Front Immunol*. 2020;11(1986):1-37.
9. Wenzel EV, Bosnak M, Tierney R, et al. Human antibodies neutralizing diphtheria toxin *in vitro* and *in vivo*. *Sci Rep*. 2020;10(571):1-21.
10. Ruschig M, Nerlich J, Becker M, et al. Human antibodies neutralizing the alpha-latrotoxin of the European black widow. *Front Immunol*. 2024;15:1407398.
11. Stokes W, Srinivas G, McFarland R, et al. Report on the international workshop on alternative methods for *Leptospira* vaccine potency testing: state of the science and the way forward. *Biologicals*. 2013;41(5):279-294.
12. Stokes W, McFarland R, Kulpa-Eddy J, et al. Report on the international workshop on alternative methods for human and veterinary rabies vaccine testing: state of the science and planning the way forward. *Biologicals*. 2012;40(5):369-381.
13. Veterinary Medicines Directorate. Animal usage in quality control tests for the batch release of immunological veterinary medicinal products (IVMPs) via the UK from 2007 to 2012. London: VMD; 2016. Accessed March 26, 2025. [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/438916/\\_518862-v8-Animal\\_Usage\\_for\\_QC\\_Batch\\_Release\\_of\\_IVMPs\\_2007-2012.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/438916/_518862-v8-Animal_Usage_for_QC_Batch_Release_of_IVMPs_2007-2012.pdf)
14. Jungböck C, ed. Potency testing for veterinary vaccines for animals: the way from *in vivo* to *in vitro*. Langen, Germany: International Alliance for Biological Standardization; 2012. <http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/silviovalle/VaccineforAnimals.pdf>
15. van den Biggelaar RHGA, Hoefnagel MHN, Vandebriel RJ, et al. Overcoming scientific barriers in the transition from *in vivo* to non-animal batch testing of human and veterinary vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2021;20(10):1221-1233.
16. Akkermans A, Chapsal JM, Coccia EM, et al. Animal testing for vaccines. Implementing replacement, reduction and refinement: challenges and priorities. *Biologicals*. 2020;68:92-107.
17. De Mattia F, Chapsal JM, Descamps J, et al. The consistency approach for quality control of vaccines—a strategy to improve quality control and implement 3Rs. *Biologicals*. 2011;39(1):59-65.
18. De Mattia F, Hendriksen C, Buchheit KH, et al. The vaccines consistency approach project: an EPAA initiative. *Pharmeu Bio Sci Notes*. 2015;2015:30-56.

## Suero fetal bovino

El suero fetal bovino (SFB) es un suplemento para medios de cultivo celular que proporciona una mezcla indefinida de

macromoléculas que mantienen la viabilidad celular y facilitan el metabolismo, el crecimiento, la proliferación y la expansión de las células en cultivo. Cuando las vacas embarazadas son asesinadas, se usa una aguja de gran calibre para extraer la sangre del corazón palpitante del feto.<sup>1,2</sup> Dado que los terneros no nacidos no están anestesiados en el momento de la recolección de sangre, es probable que experimenten dolor. En 2007, se estimó que se producían globalmente 600 mil litros de SFB cada año, lo que equivale al uso de hasta 1,8 millones de fetos bovinos para este propósito.<sup>3</sup> Dado el aumento significativo en el uso de cultivos celulares para la investigación y las pruebas regulatorias, se espera que el número de fetos usados aumente sustancialmente.

El uso de SFB plantea una serie de limitaciones científicas: (1) la variación entre lotes genera problemas de reproducibilidad en estudios *in vitro* que usan SFB (u otros productos indefinidos derivados de animales, como el extracto de hipófisis bovina); (2) la composición desconocida del suero puede dificultar el análisis de los datos obtenidos de células cultivadas y reducir la relevancia para los humanos, lo que puede conducir a resultados inesperados o indeseables; y, (3) el riesgo de contaminación por proteínas animales o patógenos es especialmente problemático en la fabricación de medicamentos biológicos para terapias humanas.

Los medios químicamente definidos, sin suero, o los lisados de plaquetas humanas pueden reemplazar el SFB en el cultivo celular. Para garantizar una reproducibilidad óptima, se debe usar un medio sin componentes animales ni suplementos derivados de animales. Durante más de 20 años, la comunidad científica ha publicado resultados de talleres que instan a adoptar medios sin componentes animales y químicamente definidos en lugar del SFB.<sup>4-7</sup> Los medios sin suero ni componentes animales están disponibles para algunos tipos celulares. Para otros, podría ser necesario optimizar la concentración del suplemento para reemplazar el SFB. Los proveedores de medios pueden ayudar a los investigadores a encontrar el medio adecuado sin componentes animales. También se está trabajando en el desarrollo de medios sin componentes animales que funcionen en diferentes tipos celulares.<sup>8</sup> En el sitio web de PETA Science Consortium International (ThePSCI.eu/fbs) y en la base de datos Fetal Calf Serum-Free Database (<https://fcs-free.org>) encontrará más información sobre cómo reemplazar el SFB en medios de cultivo celular y desarrollar medios sin suero, así como listados de empresas que ofrecen productos sin SFB. PETA Science Consortium International ha financiado la transición de líneas celulares pulmonares comúnmente usadas a medios de cultivo sin productos derivados de animales.<sup>9</sup>

Los gobiernos y las agencias reguladoras deben actuar con rapidez para restringir la producción y el uso de SFB y priorizar el desarrollo y uso de medios y suplementos sin animales. Las instancias financiadoras también deben proporcionar fondos para la transición de células a medios disponibles sin animales y para el desarrollo y la optimización de medios sin suero cuando sea necesario. Además, cualquier proyecto de investigación debe incluir una sección sobre el uso de productos derivados de animales (incluido el suero) y, en caso afirmativo, debe proporcionar detalles sobre la búsqueda de productos no derivados de animales y explicar por qué no se pudo encontrar un sustituto adecuado.

## Referencias

1. Jochems CEA, Van der Valk JBF, Stafleu FR, Baumans V. The use of fetal bovine serum: ethical or scientific problem? *Altern Lab Anim*. 2002;30(2):219-227.
2. van der Valk J, Bieback K, Buta C, et al. Fetal bovine serum (FBS): past—present—future. *ALTEX*. 2018;35(1):99-118.
3. Brindley DA, Davie NL, Culme-Seymour EJ, Mason C, Smith DW, Rowley JA. Peak serum: implications of serum supply for cell therapy manufacturing. *Regen Med*. 2012;7(1):7-13.
4. van der Valk J, Mellor D, Brands R, et al. The humane collection of fetal bovine serum and possibilities for serum-free cell and tissue culture. *Toxicol In Vitro*. 2004;18(1):1-12.
5. van der Valk J, Brunner D, De Smet K, et al. Optimization of chemically defined cell culture media—replacing fetal bovine serum in mammalian *in vitro* methods. *Toxicol In Vitro*. 2010;24(4):1053-1063.
6. Eggert S, Wiest J, Rosolowski J, Weber T. Practical workshop on replacing fetal bovine serum (FBS) in life science research: from theory into practice. *ALTEX*. 2022;39(4):712-713.
7. Weber T, Wagner K. Replacing fetal bovine serum (FBS) in research and testing. *ALTEX*. 2021;38(1):163-164.
8. Rafnsdóttir ÖB, Kiuru A, Teböck M, et al. A new animal product free defined medium for 2D and 3D culturing of normal and cancer cells to study cell proliferation and migration as well as dose response to chemical treatment. *Toxicol Rep*. 2023;10:509-520.
9. Chary A, Graff K, Stucki AO, et al. Maximizing the relevance and reproducibility of A549 cell culture using FBS-free media. *Toxicol In Vitro*. 2022;83:105423.



## Capacidades de asesoría científica de las entidades de PETA

El equipo científico que trabaja en las entidades de PETA tiene un historial comprobado de apoyo efectivo a numerosas corporaciones de la lista Fortune 100, así como a organismos reguladores y agencias gubernamentales. Este apoyo incluye la emisión de opiniones expertas, la asesoría en el ámbito regulatorio y el soporte técnico en una amplia gama de campos.

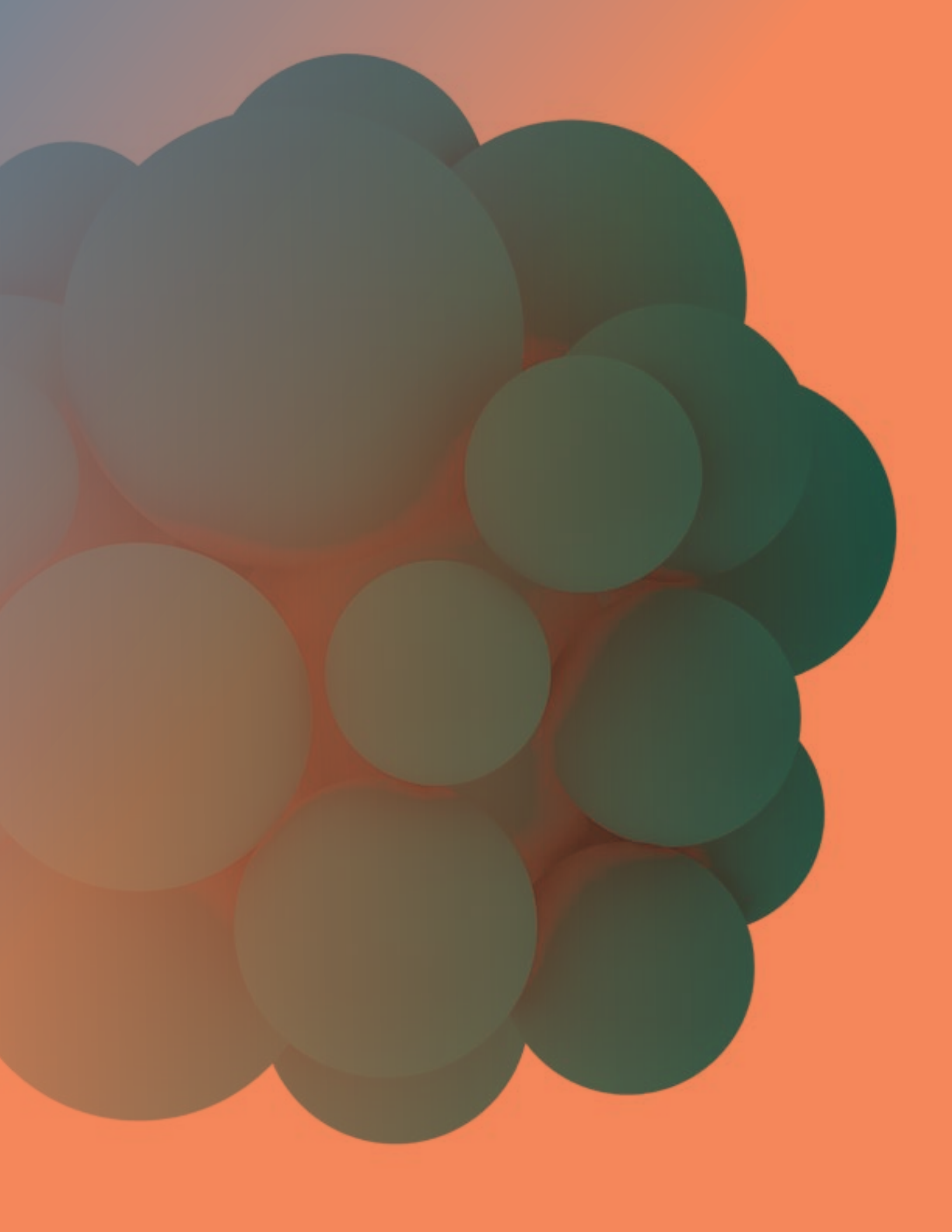
PETA Science Consortium International promueve métodos de prueba sin animales y coordina el trabajo de sus expertos en los ámbitos científico y regulatorio en las entidades de PETA en todo el mundo. PETA Science Consortium International y sus miembros participan activamente en el desarrollo, la validación, la implementación global y la armonización de métodos de prueba sin animales. Asimismo, es una parte interesada acreditada por EFSA y ECHA, miembro del Foro de Partes Interesadas de EURL ECVAM, y, con regularidad, emite comentarios sobre las directrices de prueba de la OCDE como miembro del Consejo Internacional para la Protección Animal en los Programas de la OCDE (ICAPO). En ThePSCI.eu encontrará más información sobre PETA Science Consortium International.

Dada la amplitud y profundidad de nuestra experiencia, el equipo científico de PETA puede hacer una valiosa contribución al desarrollo e implementación de este plan estratégico para el futuro de la investigación biomédica y las pruebas regulatorias.





**“ Modernicemos la Investigación YA es una guía que puede implementarse de inmediato. De no hacerlo, la investigación financiada por los contribuyentes no derivará en descubrimientos ni aplicaciones indispensables para proteger la salud humana.”**





501 Front St.  
Norfolk, VA 23510  
757-622-PETA  
757-622-0457 (fax)  
PETA.org