



Aspectos bioéticos de los métodos «in vivo» e «in vitro» en animales para el estudio de la epilepsia

Bioethical Aspects of «In Vivo» and «In Vitro» Methods in Animals for the Study of Epilepsy



Autores

Santiago González-Periañez

Universidad Veracruzana

Email: sgpqfb@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0003-3892-2353>

Pascual Linares-Márquez

Universidad Veracruzana

Email: linaresbiologo@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4534-9308>

Fernando Rafael Ramos-Morales

Instituto de Química Aplicada,

Universidad Veracruzana

Email: framos@uv.mx

 <https://orcid.org/0000-0001-9378-1958>



Resúmen

La bioética nació como un instrumento primordial que ampara los derechos de los seres vivos y cobija la protección del bienestar animal no solo en el ámbito de investigación, sino como parte del accionar del ser humano. En la actualidad, los modelos animales representan lo más aproximado para estudiar respuestas fisiológicas y patológicas en el humano, además, de probar nuevos compuestos biológicos. En el presente trabajo se comparan los principales modelos animales para la evaluación e investigación de la epilepsia y se reflexionan sus aspectos éticos en estudios realizados por diferentes equipos de investigación en el mundo.

Abstract

Bioethics was born as a fundamental instrument for the protection of the rights of living beings, and covers the protection of animal welfare, not only in the field of research, but as part of the actions of the human being. Currently, animal models represent the closest thing to study physiological and pathological responses in humans, as well as testing new biological compounds. In this paper, the main animal models for the evaluation and investigation of epilepsy are compared and their ethical aspects are reflected in studies conducted by different research teams around the world.

Key words

In vitro; in vivo; epilepsia; modelos animales; bioética.
In vitro; in vivo; epilepsy; animal models; bioethics.

Fechas

Recibido: 12/01/2021. Aceptado: 21/01/2022



1. Introducción

La epilepsia es una de las enfermedades neurológicas crónicas más importantes, recurrentes y progresivas, afecta aproximadamente a 50 millones de personas en el planeta (Campos et al., 2018). La prevalencia de la epilepsia es de 4 a 10 por cada 1000 personas, se estima que alrededor del 30% de los pacientes son resistentes al tratamiento farmacológico actualmente disponible, incluso cuando se les administra el tratamiento más conveniente disponible (Łukawski et al., 2016).

La Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE por sus siglas en inglés) la define como la “crisis o ataques recurrentes producidos por una descarga neuronal excesiva, súbita y desordenada de un grupo de neuronas no relacionadas con enfermedades agudas”. En México, estudios epidemiológicos han demostrado que existe un número aproximado de pacientes que oscila entre 1.5 y 2 millones (Collado-Corona et al., 2020).

En México, estudios epidemiológicos han demostrado que existe un número aproximado de pacientes que oscila entre 1.5 y 2 millones

En los últimos años, la bioética ha tomado un lugar en las ciencias como una disciplina esencial para ayudar a resolver nuevos y complejos dilemas que surgen con el permanente desarrollo de la ciencia y la biotecnología. En la actualidad, los modelos animales aún representan el modelo más aproximado para determinar respuestas fisiológicas y patológicas en el humano. Por esta razón, es necesaria su integración en la investigación, además, de que, en otros países y en México, por normatividad, los experimentos deben realizarse primero en animales y según la analogía de los efectos en estos, se podrían emplear en humanos. Esto referido al artículo 14 del Reglamento de la Ley General

de Salud en Materia de Investigación para la Salud del año 1987. Es por ello que en el presente trabajo se busca comparar los principales métodos para la evaluación e investigación de la epilepsia y evaluar sus aspectos éticos tomando en cuenta sus pros y contras.

2. Antecedentes bioéticos en la experimentación con animales

La ética en la experimentación animal tiene sus antecedentes en los años 30, con el auge de las regulaciones en países europeos y Estados Unidos. Posteriormente con el tiempo, se perfeccionó hasta convertirse en disposiciones, regulaciones y leyes en esos países. Estos principios se expandieron hacia otros países, una vez que se conformaron organizaciones como el Consejo Internacional para las Ciencias de los Animales de Laboratorio (ICLAS) y el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS) (Sauer, 2004; Hernández, 2006).

Como resultado se conforma la bioética animal como el conjunto de normas éticas que regulan el comportamiento y las relaciones del ser humano con los animales. Ya que el hombre es concebido como animal y parte de la naturaleza, por lo tanto debe convivir en armonía con ella, esto se traduce en que las actividades humanas deben desarrollar



se de forma que sean acordes con el mantenimiento y el mejoramiento del ambiente ecológico, que le da sustento, motivo por la cual la bioética se hace esencial en la reflexión y la transformación de factores culturales en la construcción de la conciencia y del ser racional de los seres humanos (Landinez et al., 2014).

David Hume formuló una hipótesis que consistía en que en los animales existen acciones mentales comunes entre seres humanos y animales, que no son las racionales sino las emocionales

Dentro de la investigación con animales existen varias opiniones, ya sea para justificarla o rechazarla. Como justificación, se favorece por el beneficio que tiene para el ser humano, ya que se piensa que este tiene jerarquía por razones evolutivas, filosóficas o religiosas. Se debe considerar que toda investigación con animales supone un dilema moral, ya que, mientras el uso de animales es necesario para curar y prevenir enfermedades, también implica que a estos se les debe tratar de formas moralmente aceptadas, por lo que se debe procurar en la investigación científica reducir el número de animales y disminuir el sufrimiento; esto es una prioridad (Pérez et al., 2011; Aular, 2018).

Han existido varias corrientes éticas y filosóficas que debaten si los animales tienen un estatus moral o no. Por ejemplo, René Descartes, se basaba en las diferencias entre animales y humanos, siendo famoso su “pienso, luego existo” el argumento central para no atribuir ningún valor moral a los animales. Su premisa era que los animales no eran seres racionales, sino que funcionaban como máquinas, que no tenían sentimientos, conciencia de sí mismos. Según él y su visión, hace que los humanos no tengan un deber moral directo hacia ellos. A partir de este punto, se ha realizado a través del tiempo una vasta investigación sobre si los animales tenían alguna memoria, razonamiento, habilidad para sentir dolor, angustia o sensaciones placenteras. Sin embargo, otros filósofos, rebatieron este enfoque planteando que esa no era la cuestión fundamental en la forma como los humanos trataban, o deberían tratar, a los animales (Gimpel, 2009).

Jeremy Bentham en 1798, en uno de sus principales escritos, *Introducción a los principios de la moral y la legislación*, se preguntaba cuándo comenzaría la preocupación por el trato que se les daba a los animales, ya que por no hablar o demostrar una inteligencia como la humana se les trataba indignamente. Él planteaba que el asunto fundamental respecto de los animales no es preguntarse si tienen la capacidad de razonar o no, sino si tienen la capacidad de sufrir. De hecho, en algunos casos los animales pueden demostrar mayores capacidades intelectuales que los humanos, por ejemplo, en personas con discapacidad mental o personas en estado vegetativo. Gracias a esto, surgió una nueva concepción asociada con la comprensión de los principios darwinianos donde se establece que los humanos son el resultado de la evolución y comparten características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas con otros animales, más allá de los procesos mentales como las emociones (Wilson, 2002).

David Hume formuló una hipótesis que consistía en que en los animales existen acciones mentales comunes entre seres humanos y animales, que no son las racionales sino las emocionales, centrándose en dos; el amor a la verdad y la identidad personal, llegando a la conclusión de igualdad entre humano y animal (Usanos, 2017). Por otra parte, Peter Singer en 1975, publicó su libro *Animal Liberation* donde plantea el utilitarismo que consiste en la igualdad de especies y que los animales no tienen conciencia



de sí mismos y no considera un valor moral en cada individuo (Gimpel, 2009). Otra postura ética es la de Tom Regan, en la que los individuos tienen valor esencial, ya que, por el solo hecho de estar vivos, merecen respeto, sea cual sea su condición. Además, un punto muy importante de esta postura es que menciona el derecho a defender la especie humana cuando hay conflictos de intereses, ya que la considera más valiosa que la de otros seres vivientes (Regan, 2003; Webster, 2006; Gimpel, 2009).

La utilización de animales es importante para establecer mejoras en la salud humana, pero esta debe estar limitada por indicadores que cuiden de las especies utilizadas en la investigación científica. Esto se remonta desde la creación del código de Núremberg, el cual constituyó la primera normativa ética de investigación científica, seguido por las declaraciones de Helsinki en el año 1964, inspirados ambos para corregir las prácticas de investigación sin régimen. La primera surgió en respuesta a las atrocidades del nazismo alemán y la segunda al clima de transgresiones a la ética de la investigación denunciadas en 1966 y desde esa oportunidad se ha revisado cinco veces. La declaración de Helsinki se destaca de las anteriores porque establece estándares éticos prospectivos, comenta y establece las prácticas éticas inaceptables, proponiendo además corregir en el futuro estrategias tradicionales de la investigación.

Otra pauta vital en el manejo de animales de investigación, ocurrió en 1959, donde William Russell y Rex Burch enunciaron la nueva estrategia sobre experimentación animal, basada en las “tres R” (Tabla 1): reemplazar, reducir y refinar (Mrad, 2006).

Tabla 1. Definición y estrategias de las tres erres

PRINCIPIO	DEFINICIÓN	ESTRATEGIAS O ALTERNATIVAS
Reemplazar	Reemplazo de animales conscientes por animales no conscientes: agrupan aquellos métodos que permiten realizar experimentos sin el uso de animales	Sistemas <i>in vitro</i> , <i>software (in silico)</i>
Reducir	Reducción del número de animales sin disminución de la precisión	Selección del modelo animal; criopreservación; métodos estadísticos avanzados; banco de datos: publicación de resultados negativos para no repetir; acceso a literatura especializada
Refinar	Refinamiento de las técnicas para reducir el dolor y el malestar	Cuidado y bienestar animal; perfeccionamiento de métodos para detectar dolor; uso de anestésicos, analgésicos y tranquilizantes; aplicar eutanasia anticipada

Fuente: Modificado de Giraldo y Zuluaga (2012)

Es de vital importancia recalcar que en lo descrito en la publicación *Principios Directrices Internacionales para la Investigación Biomédica que implique el uso de Animales* del CIOMS, se establece que los experimentos con animales deben realizarse solamente



después de la debida consideración de su relevancia para la salud humana o animal, para el avance del conocimiento científico y que los investigadores y el resto del personal deben tratar siempre a los animales como seres sensibles, considerando su cuidado y uso apropiado un imperativo ético, minimizando el estrés o dolor (Macrae, 2007). Gracias a estos principios bioéticos, se han ido adoptando leyes para su aplicación a través de normas bioéticas en diferentes países del mundo, por ejemplo, en EE. UU. se utilizan las normas de la *Guide for Laboratory Animals Facilities and Care* del año 1963

Para el estudio de la epilepsia se han descrito modelos experimentales basados principalmente en imitar las crisis epilépticas observadas en el humano. Esta revisión está enfocada en dos tipos de estudios de investigación *in vitro* e *in vivo*

y *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Guide)* expedida en 1985. En México, actualmente se utiliza la Norma Oficial Mexicana *Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio* NOM-062-ZOO-1999.

En la actualidad, cada país debe tener un comité institucional ético, a nivel federal o en cada instituto de investigación, que evalúe los procedimientos de utilización animal, las instalaciones y leyes estatales e internacionales que aprueben la investigación, estos deben observar el buen funcionamiento y cuidado del manejo e intervención de las especies animales (Aranda y Pastor, 1999). En México, esto se regula por la CONBIOETICA (Comisión Nacional de Bioética) y por la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-19992, la cual, contiene especificaciones para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio; reglas

sobre su adquisición, espacio, alimentación, manejo, salud y eutanasia, además fija estrictos controles para los laboratorios sobre el trato que deben dar a los animales. A su vez, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud obliga a cumplir estrictos requisitos evitando al máximo el sufrimiento de los animales y, en casos de muerte, también se debe asegurar que sea sin dolor.

3. Modelos experimentales para el estudio de la epilepsia en animales

Para el estudio de la epilepsia se han descrito modelos experimentales basados principalmente en imitar las crisis epilépticas observadas en el humano. Esta revisión está enfocada en dos tipos de estudios de investigación *in vitro* e *in vivo*. Dentro de los modelos *in vitro* tenemos preparaciones de cortes de hipocampo entorrinal de rata, cultivos organotípicos de cortes de hipocampo de rata, ráfagas espontáneas en cortes de corteza entorrinal-hipocampal medial de rata tratada con ácido kaínico, modelo de convulsión de picrotoxina (PTX) en *Drosophila* (Jefferys, 2003; Kandratavicius et al., 2014; Pitkänen et al., 2017; Löscher et al., 2020; Pérez-Pérez et al., 2021).

Con respecto a los modelos *in vivo* existen numerosos modelos dentro de los que destacan: ácido kainico o kainato, pilocarpina, pentilentetrazol (PTZ), Toxina tetánica (*Clostridium tetani*), electrochoques a 60 Hz, ratas modificadas genéticamente para favorecer los ataques epilépticos y el pez cebra, el cual se ha sido muy utilizado en la actualidad (Löscher, 2002; Rubio et al., 2010; Pitkänen et al., 2017; Löscher et al., 2020; Pérez-Pérez et al., 2021).



Existen tres categorías generales para clasificar a los modelos experimentales de epilepsia: (i) considerando la duración del modelo para inducir las crisis epilépticas: agudos y crónicos; (ii) el origen causal de la actividad epiléptica: sustancias químicas, estímulos físicos, alteraciones metabólicas o mutaciones genéticas; y (iii) el tipo de actividad epiléptica que se produce: focales o generalizadas, corticales o límbicas, clónicas o tónicas, estado epiléptico, etc. (Zavala-Tecuapetla y López-Meráz, 2011).

Podemos mencionar que dentro de las ventajas de los experimentos *in vitro* se encuentran que imitan mejor las características clínicas y conductuales de la epilepsia, también pueden ser aplicados en modelos crónicos, es decir, de larga duración, semejante a un paciente que sufre esta enfermedad y lo más interesante es que se puede estudiar la epileptogénesis. Cabe mencionar que la principal desventaja es que los animales deben ser eutanasiados.

Los modelos crónicos con convulsiones recurrentes son posiblemente un modelo más realista de epilepsia y son esenciales para las investigaciones de la epileptogénesis y la progresión de la enfermedad, además, de las comorbilidades

Dentro de los experimentos *in vivo* se tienen ventajas como utilizar menos tiempo en realizarse y son más baratos, y pueden utilizarse para estudios de convulsiones de tipo agudo, es decir, de corto tiempo. Sus principales desventajas son que estos estudios pueden ser de viables durante unas horas y que la complejidad de un ser vivo no se puede reproducir por completo.

Las convulsiones agudas en roedores experimentales se han utilizado ampliamente en la detección de fármacos anticonvulsivos, por ejemplo, utilizando el electrochoque o pentilinetetrazol.

En esos casos, el criterio de valoración humanitario puede ser la dosis umbral o el tiempo de aparición de etapas particulares de las convulsiones conductuales. Si el animal muere después de alcanzar el punto final humanitario, entonces los daños experimentados son principalmente la inyección o aplicación de electrodos. Si se permite que el animal se recupere, se debe prestar atención al bienestar durante el periodo posterior, especialmente si la convulsión es prolongada (Englot y Blumenfeld, 2009).

Los modelos crónicos con convulsiones recurrentes son posiblemente un modelo más realista de epilepsia y son esenciales para las investigaciones de la epileptogénesis y la progresión de la enfermedad, además, de las comorbilidades. La cantidad de convulsiones que los animales deben experimentar depende del propósito de la investigación. Si el objetivo es probar la capacidad de un tratamiento (por ejemplo, un nuevo fármaco, dieta o estimulación terapéutica) para reducir la frecuencia de las convulsiones, entonces los animales o periodos de control necesitarán varias rondas de convulsiones, si se quiere que el estudio tenga la potencia adecuada. Pueden ser apropiadas menos convulsiones si el objetivo es determinar las acciones celulares o moleculares inmediatas de agentes epileptógenos conocidos, o identificar los mecanismos para el proceso de epileptogénesis que transforma el cerebro normal en epiléptico, después de algún ataque epileptógeno (Brooks-Kayal et al., 2013; Stables et al., 2002, 2003). El MES y el scPTZ se encuentran entre los modelos de convulsión aguda más utilizados (Barker-Haliski y White, 2015), y la prueba MES sigue siendo el único modelo animal de convulsión clínicamente validado (Barker-Haliski et al., 2015).



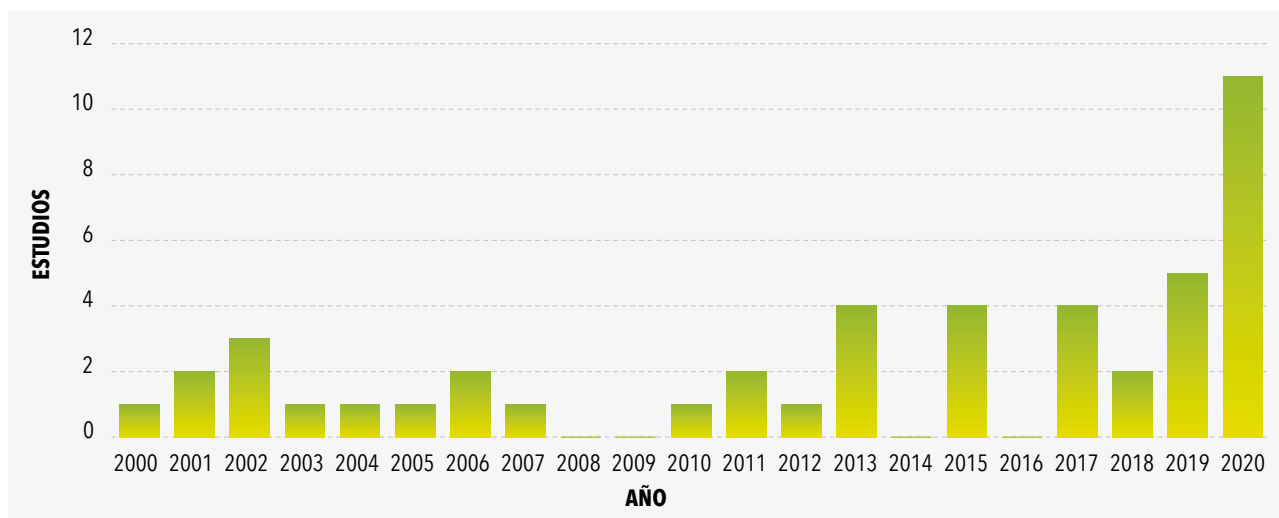
4. Método

Se realizó una revisión de 80 artículos científicos del año 2000 al 2020 en las bases de datos: Springer Link, EBSCO, Science Direct (disponibles en la biblioteca virtual de la Universidad Veracruzana) y Google Académico. Se consideraron los siguientes criterios: a) la categoría del estudio de investigación (*in vivo* o *in vitro*) y b) duración del tratamiento. Además, se consideró para el análisis: la especie animal, el número de sujetos experimentales, el tipo de inducción de las crisis convulsivas y se consideró la nacionalidad donde se realizaron las investigaciones. Se elaboró una base de datos en Excel con la información recopilada, donde se incluyeron todos los artículos correspondientes. Posteriormente se representaron los datos de forma descriptiva a través de gráficos.

5. Resultados y discusión

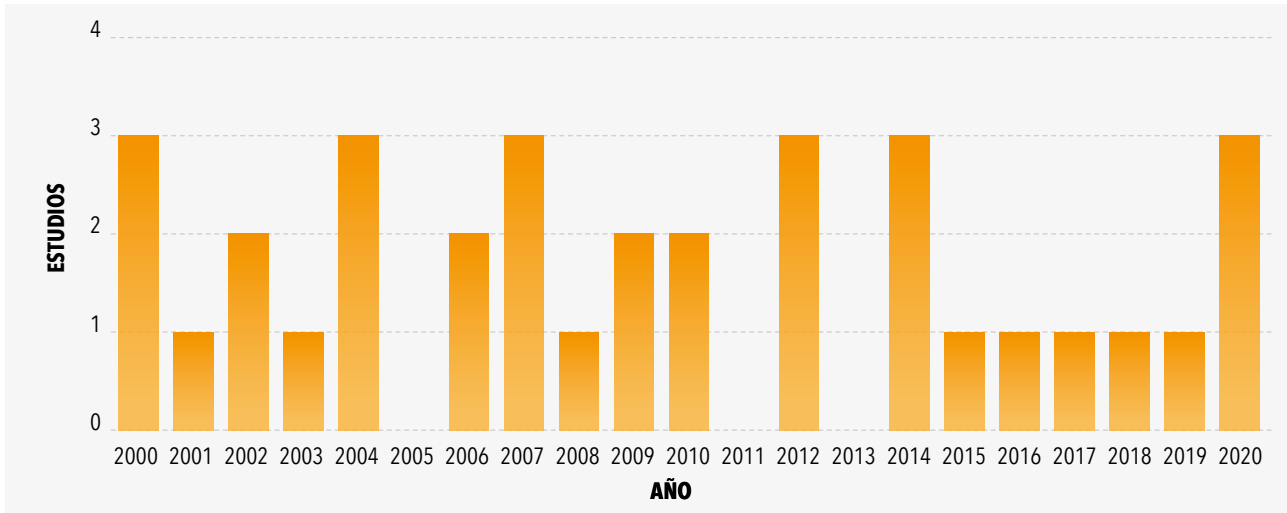
En total se revisaron 80 artículos de investigación, de los cuales 34 fueron estudios *in vitro* y 46 *in vivo*. De los estudios *in vivo* (gráfica 1), el año en el que más se publicaron fue en 2020 con 14% mientras que los estudios *in vitro* (gráfica 2), se publicaron en un promedio de 4% en los años: 2000, 2004, 2007, 2012 y 2020. Esto nos da una clara visión de que los estudios *in vivo* tienen una mayor frecuencia, además, de que se utilizan como primera opción al estudiar nuevas moléculas o nuevos tratamientos para esta enfermedad. También, se observó que la mayoría de los estudios de investigación *in vitro* utilizan cortes histológicos de hipocampo y se utilizan para la investigación de la farmacoresistencia hacia la epilepsia.

Gráfica 1. Estudios *in vivo* sobre la epilepsia realizados en el lapso del 2000-2020



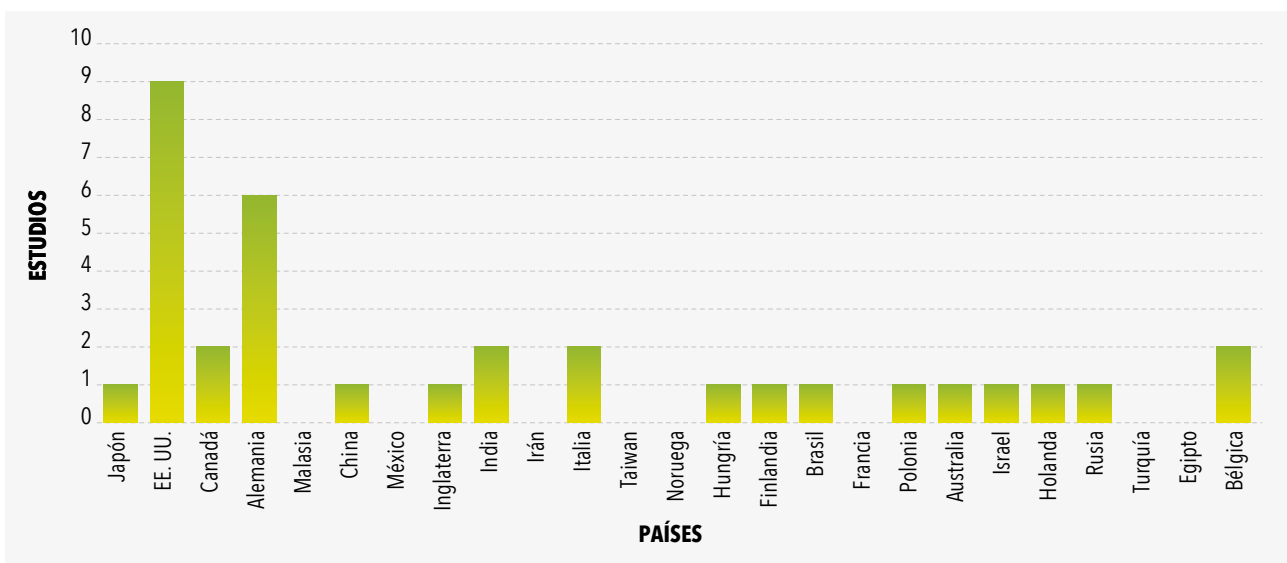


Gráfica 2. Estudios *in vitro* sobre la epilepsia realizados en el lapso del 2000-2020



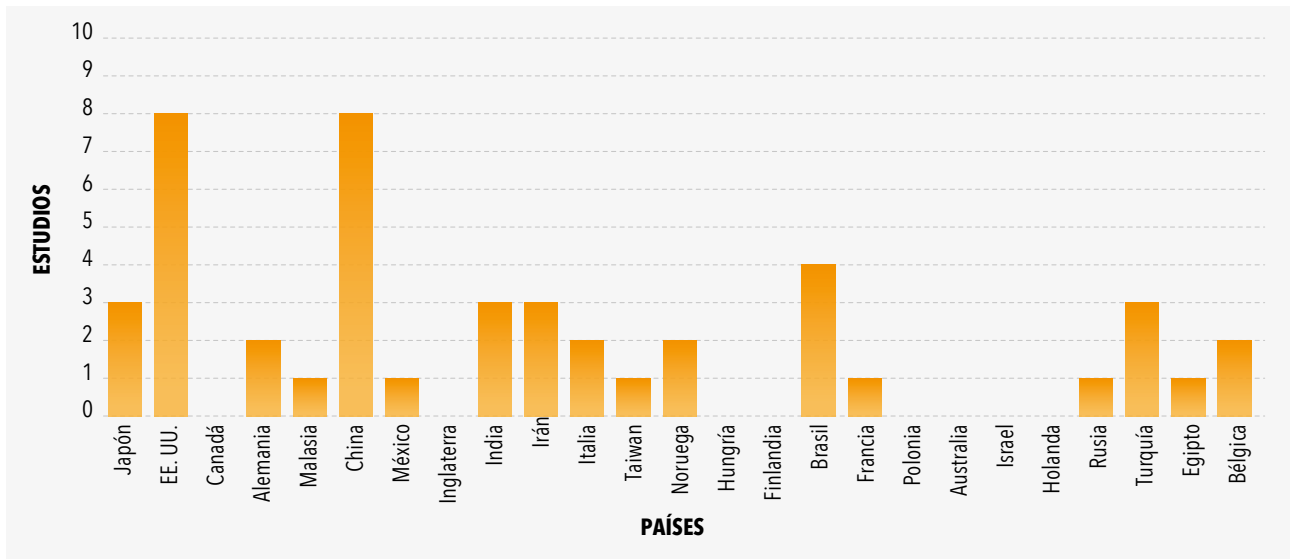
Por otra parte, se analizó la nacionalidad de los estudios realizados, mostrándose en la gráfica 3 que, en Estados Unidos, se realizó la mayor publicación *in vitro* con 11%. Se hace presente Latinoamérica con Brasil (1%). Respecto a las investigaciones *in vivo* (gráfica 4), China y Estados Unidos presentan la mayor cantidad con 10% cada uno. Cabe señalar que también hubo reportes de Latinoamérica con México (1%) y Brasil (5%).

Gráfica 3. Países con mayor cantidad de estudios *in vitro* sobre la epilepsia



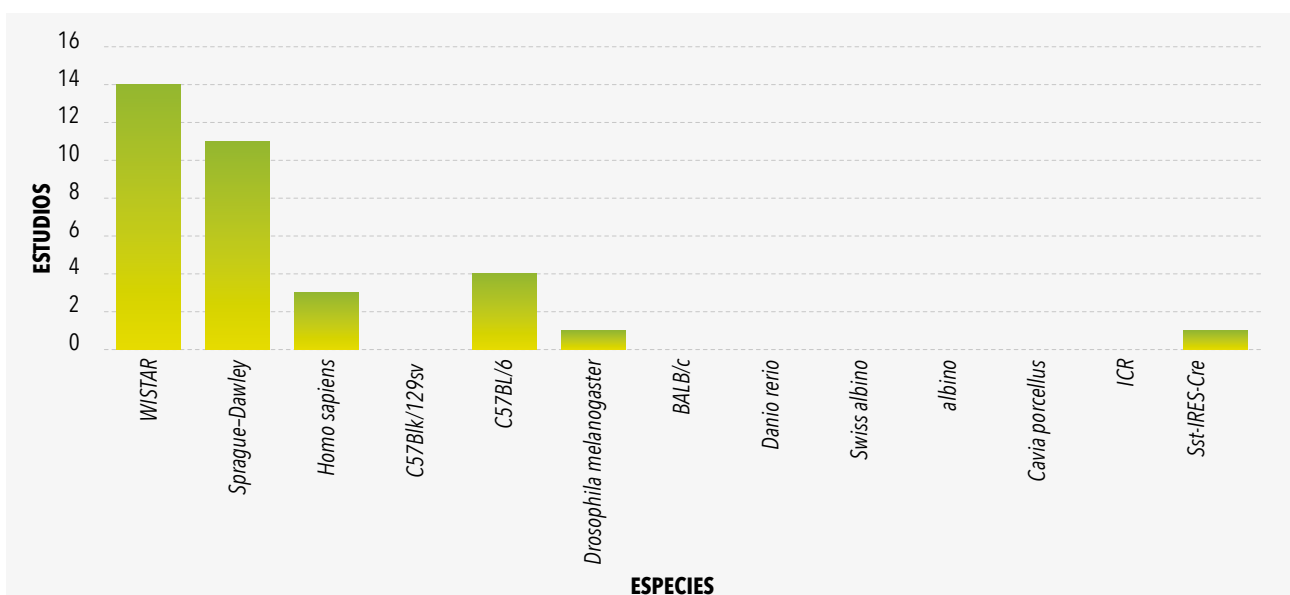


Gráfica 4. Países con mayor cantidad de estudios *in vivo* sobre la epilepsia



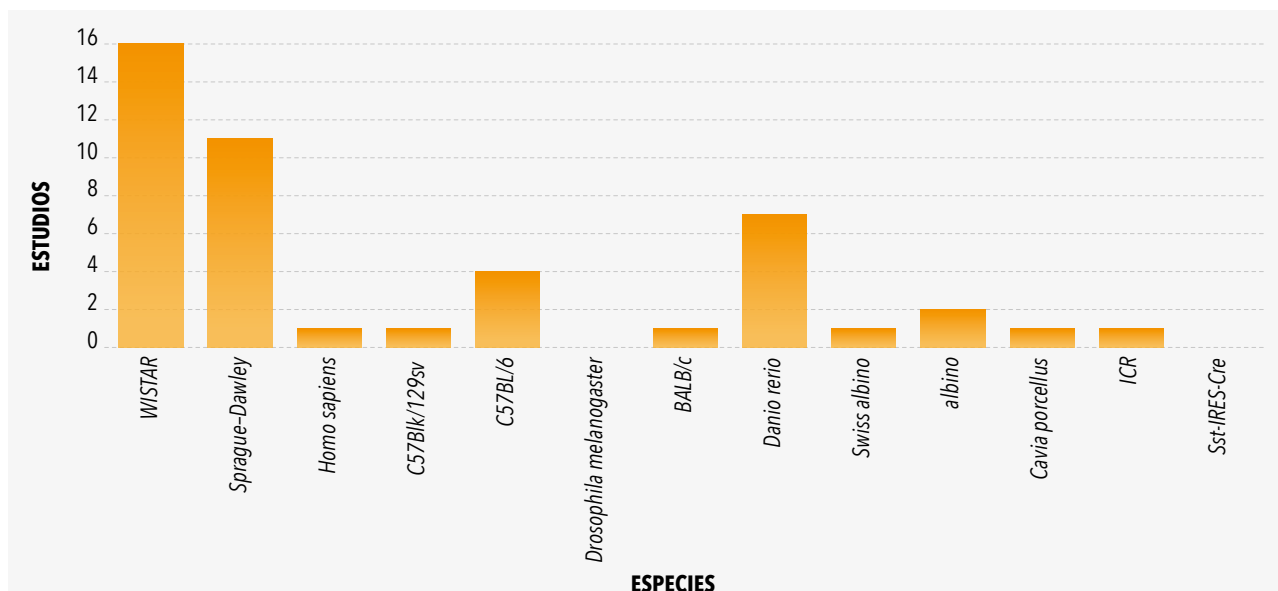
Considerando a las especies utilizadas en los estudios, se reporta que tanto en estudios *in vitro* e *in vivo* (gráficas 5 y 6) se utiliza a la *Rattus norvegicus* de la cepa Wistar utilizada un 18% *in vitro* y 20% *in vivo*, seguido de la cepa Sprague-Dawley donde se reporta un 14% *in vivo* e *in vitro*. La especie más utilizada seguida de la rata en los estudios *in vivo* es el pez cebra con 9% (*Danio rerio*). Es importante señalar que se utilizaron en ambos tipos de estudios, a pacientes humanos (1% *in vivo* y 4% *in vitro*) y se especificó que se utilizaron los consentimientos informados.

Gráfica 5. Especies utilizadas en estudios *in vitro* en el estudio de la epilepsia





Gráfica 6. Especies utilizadas en estudios *in vivo* en el estudio de la epilepsia



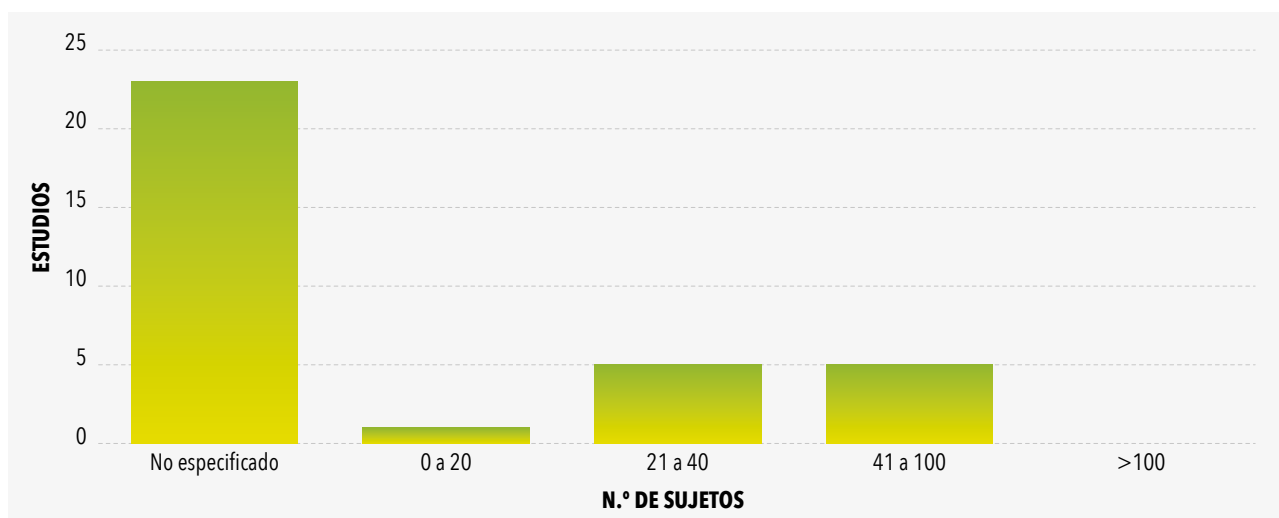
Otro punto importante fue el del número de sujetos experimentales reportados para estos estudios y se encontró que para investigaciones *in vitro* el 29%, no especifica el número de sujetos (gráfica 7), donde la mayoría se utilizan cortes histológicos. Cabe señalar que se utilizó en mayor cantidad animales como ratas *Wistar*. Dentro de los estudios *in vivo* (gráfica 8), el 18% se reporta que se utilizaron de 41-100 animales para las investigaciones y 16% para más de 100 animales. Con respecto al principio de las “tres erres” de Russell y Burch, se hace mención a la reducción, que se refiere al uso menor de animales para obtener resultados suficientes, sin embargo, el 18% hace mención al uso entre 41-100 individuos, además, de utilizar dos cepas de ratas (*Wistar* y *Sprague-Dawley*) y una especie de pez (*Danio rerio*). La *reducción* tiene como objetivo minimizar la cantidad de animales utilizados, pero los experimentos deben tener el poder suficiente para producir conclusiones confiables o todo el estudio sería una pérdida de animales, tiempo y dinero. El reemplazo evitaría el uso de animales de experimentación, reemplazándolos con otros métodos, por ejemplo, cultivos celulares, voluntarios humanos, etc. En muchas jurisdicciones, la naturaleza de los animales “protegidos” está estrictamente especificada, por lo general incluye vertebrados y, en algunos casos, cefalópodos. Otros invertebrados y algunas formas inmaduras de vertebrados (por ejemplo, larvas de pez cebra) pueden quedar excluidos del estado de protección. Además, el punto de reciclar animales, no se cumple en este tipo de estudios, ya que los sujetos de estudio se eutanasian, siguiendo el refinamiento que es el uso de métodos para minimizar el sufrimiento experimentado por los animales utilizados en la investigación científica.

El sufrimiento se define como “dolor, angustia o daño duradero” por la legislación europea y del Reino Unido, y se utiliza ampliamente en la bioética de la investigación con animales. Una forma de limitar el dolor, el sufrimiento, la angustia o el daño duradero en los experimentos con animales es definir puntos finales humanos para cada experi-

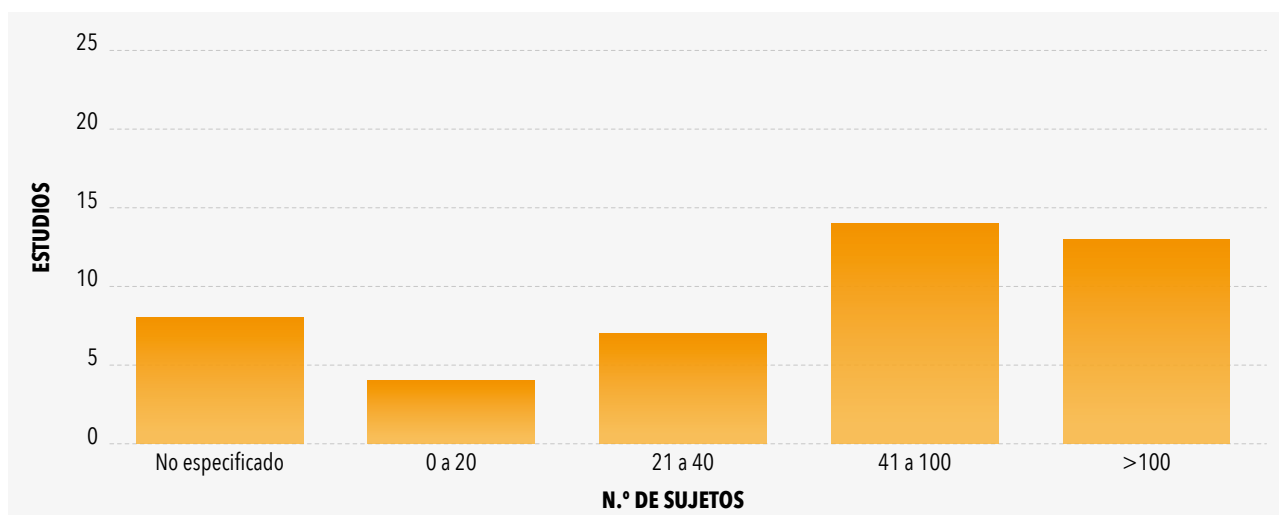


mento, es decir, si el animal sufrió demasiado, no es correcto reutilizarlo para el mismo u otro experimento. Esto es particularmente importante para los experimentos agudos; por ejemplo, en estudios para probar las propiedades anticonvulsivantes de fármacos o metabolitos de plantas, el punto final humanitario puede ser el inicio de una clase particular de convulsión motora, después de la cual el animal debe ser eutanasiado.

Gráfica 7. Número de sujetos experimentales utilizados en estudios *in vitro* de la epilepsia



Gráfica 8. Número de sujetos experimentales utilizados en estudios *in vivo* de la epilepsia



También se evaluó la duración del tratamiento para las investigaciones, obteniéndose que el 34% de los estudios *in vivo* revisados (gráfica 9), se utilizan tratamientos agudos, los cuales tienen duración máxima de 30 días, seguidos de 13% de estudios crónicos con duración de entre de uno a varios meses, y por último 8% no mencionan la duración de los tratamientos, además, 4% hacen mención de que se utilizaron tratamientos com-

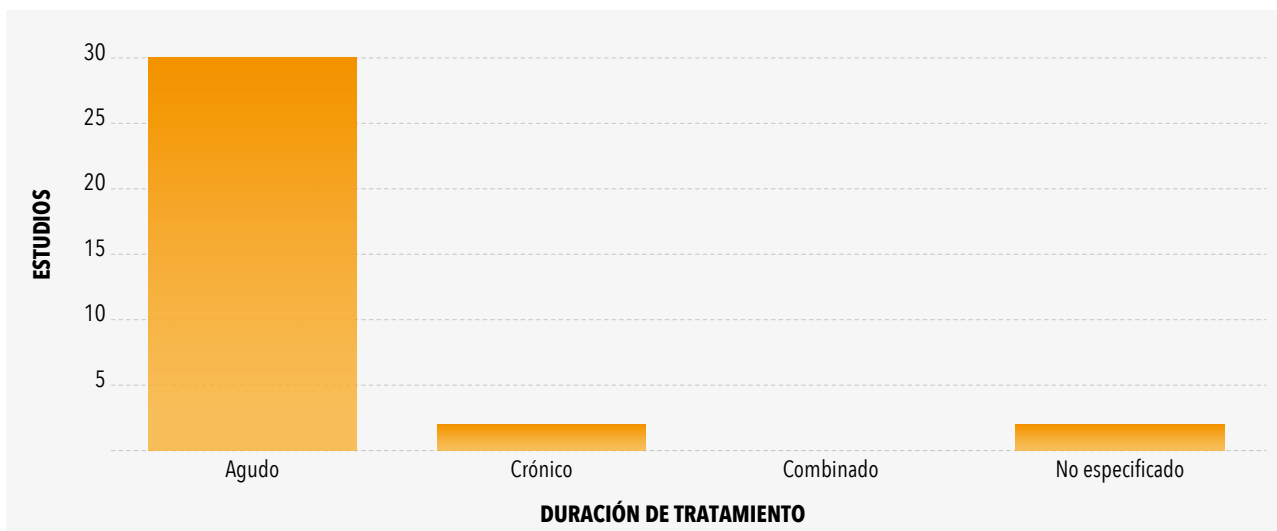


binados. Por parte de los estudios *in vitro* (gráfica 10), la mayoría de estudios (38%), mencionan que se utilizaron tratamientos agudos y solo el 3% tanto crónicos como no especificados.

Gráfica 9. Duración del tratamiento *in vivo* en el estudio de la epilepsia



Gráfica 10. Duración del tratamiento *in vitro* en el estudio de la epilepsia



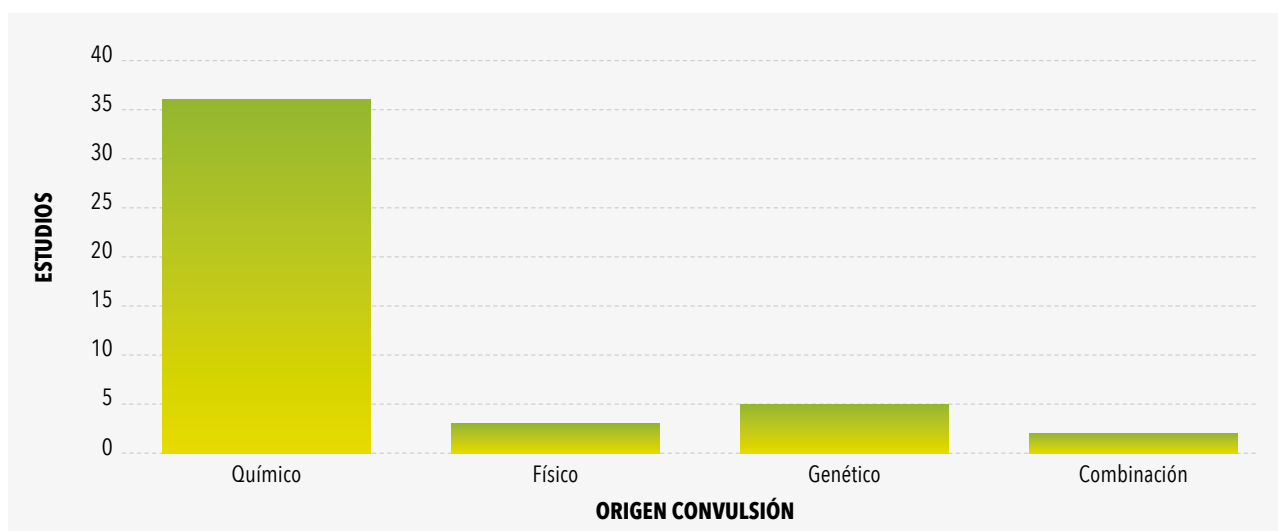
Por parte del origen de las convulsiones, en los estudios *in vivo* (gráfica 11) se reportaron la mayoría de investigaciones que se utilizaron métodos químicos, con el 45%, seguidos del 6% del tipo genético, 4% del tipo físico y 3% combinados. Por parte de las investigaciones *in vitro* (gráfica 12), se reportó que 30% de los estudios fueron del tipo químico, 9% del tipo físico y 4% del tipo genético. Por lo tanto, se observó que las sustancias más utilizadas para la inducción de convulsiones fueron el Pentilentetrazol



(PTZ) y la pilocarpina con el 21% cada una en estudios *in vivo* (gráfica 13), después siguen las estimulaciones eléctricas con 8%. Dentro de los estudios *in vitro* (gráfica 14), se observó que el 8% utilizaron el cambio en la concentración de iones (Ca^{2+} , K^+ y Mg^{2+}) para simular el cambio eléctrico que sugiere la presencia de un ataque convulsivo. También se observó que hubo modelos más variados como la utilización de 4-aminopiridina, estimulación eléctrica y combinación de pilocarpina o bicuculina con 4-aminopiridina.

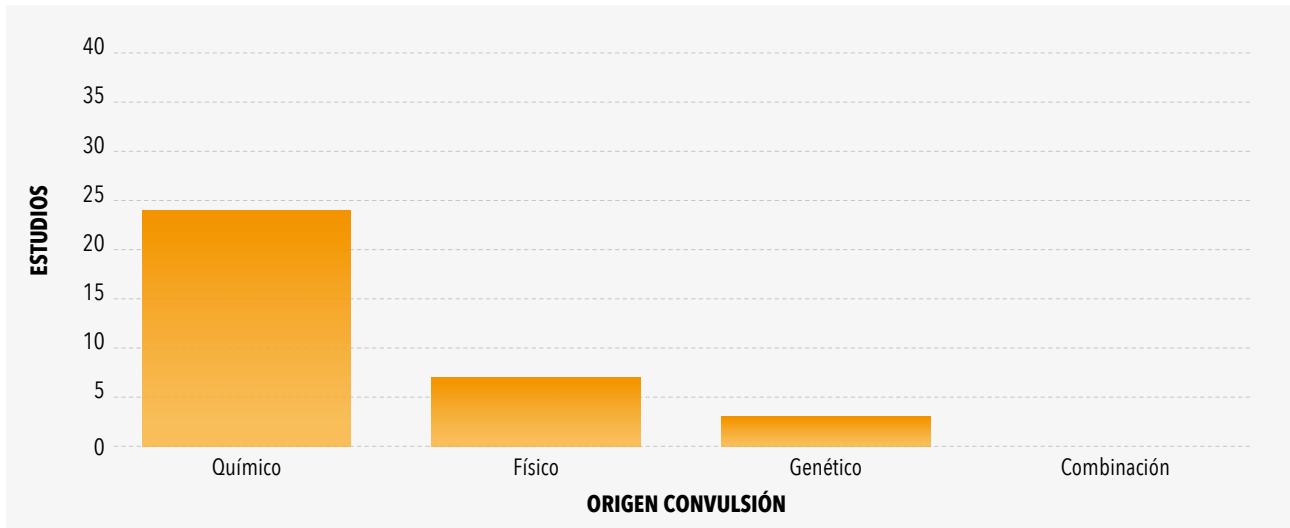
Desde el punto de vista bioético, estas técnicas deberían ser menos utilizadas ya que provocan un nivel de estrés y dolor mayor, porque las especies animales que se usan para estos estudios son expuestas a sustancias tóxicas, se provocan lesiones cerebrales, además, de que los animales sufren ansiedad y depresión. Aunque es importante señalar que se utilizan sedantes para disminuir estos padecimientos. Sin embargo, muchas cuestiones en la epilepsia todavía requieren investigación a nivel del organismo *in vivo*, por ejemplo, sobre comorbilidades y, en cierta medida, sobre la propagación de las crisis a través de las redes cerebrales y los mecanismos y la modificación de la epileptogénesis, por lo cual, debe mencionarse que estas técnicas son consideradas muy importantes y son las que más se utilizan en el mundo, basado en los resultados que se encontraron en los artículos, considerando que los estudios neurológicos en nuestros tiempos se han vuelto de mayor relevancia debido a que, millones de personas en el mundo sufren de trastornos neurológicos, lo que implica la continuidad de los estudios con animales, en estas líneas de investigación.

Gráfica 11. Origen de convulsiones en estudios *in vivo* en la investigación de la epilepsia

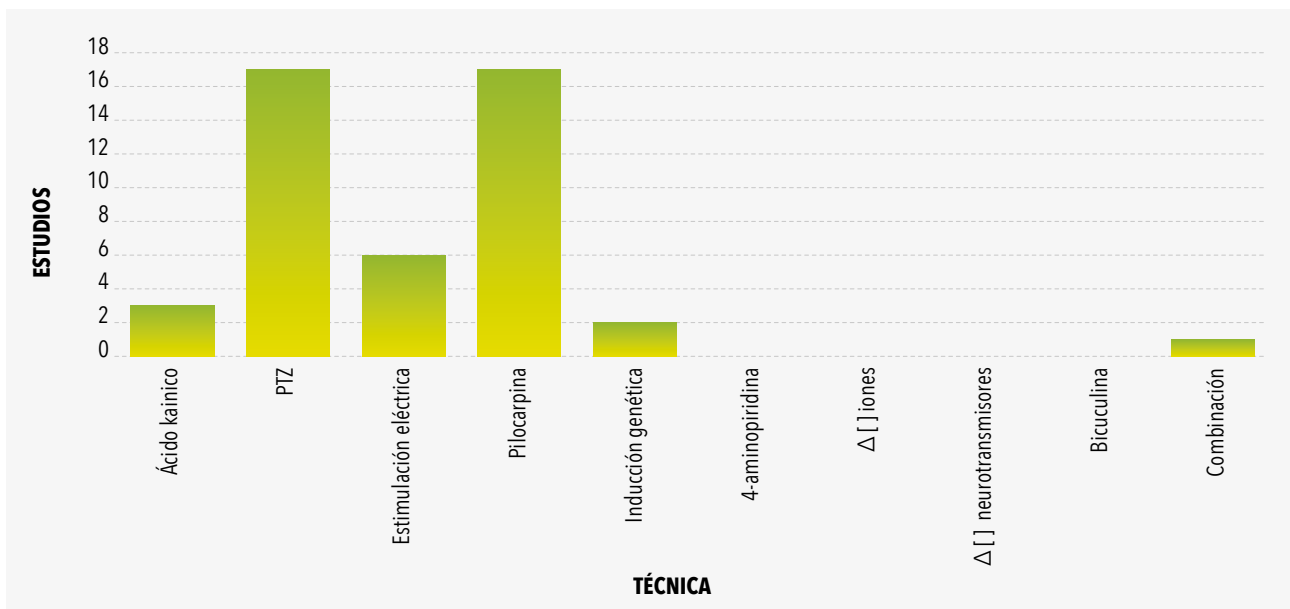




Gráfica 12. Origen de convulsiones en estudios *in vitro* en la investigación de la epilepsia

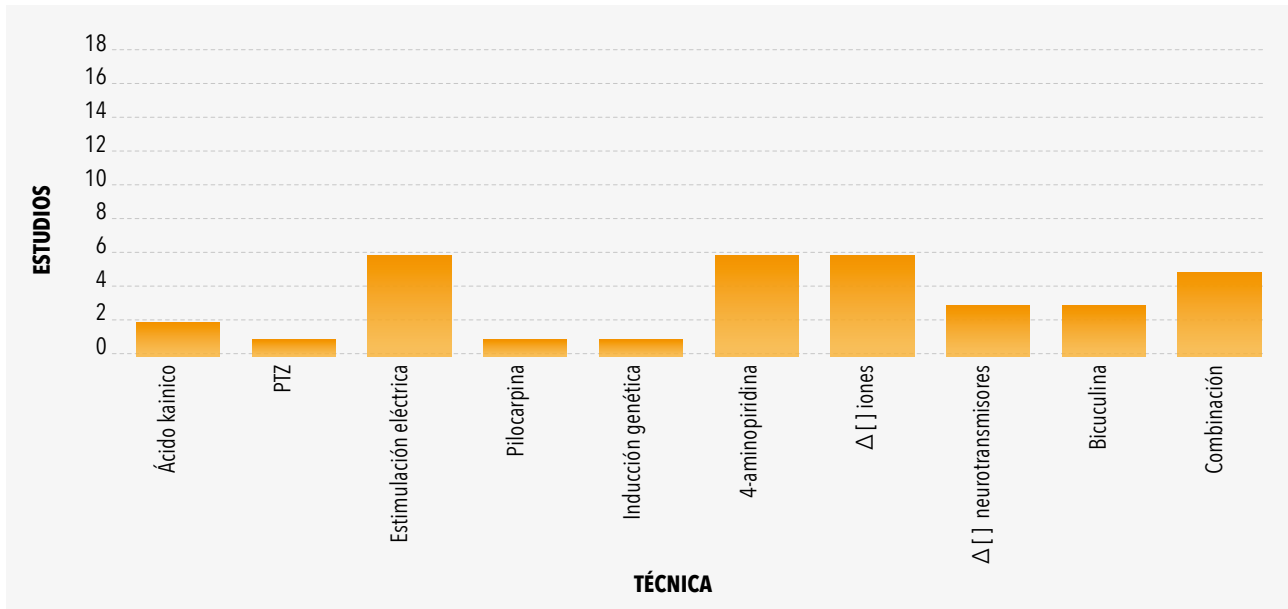


Gráfica 13. Técnicas utilizadas para inducción de convulsiones en estudios *in vivo* de la epilepsia



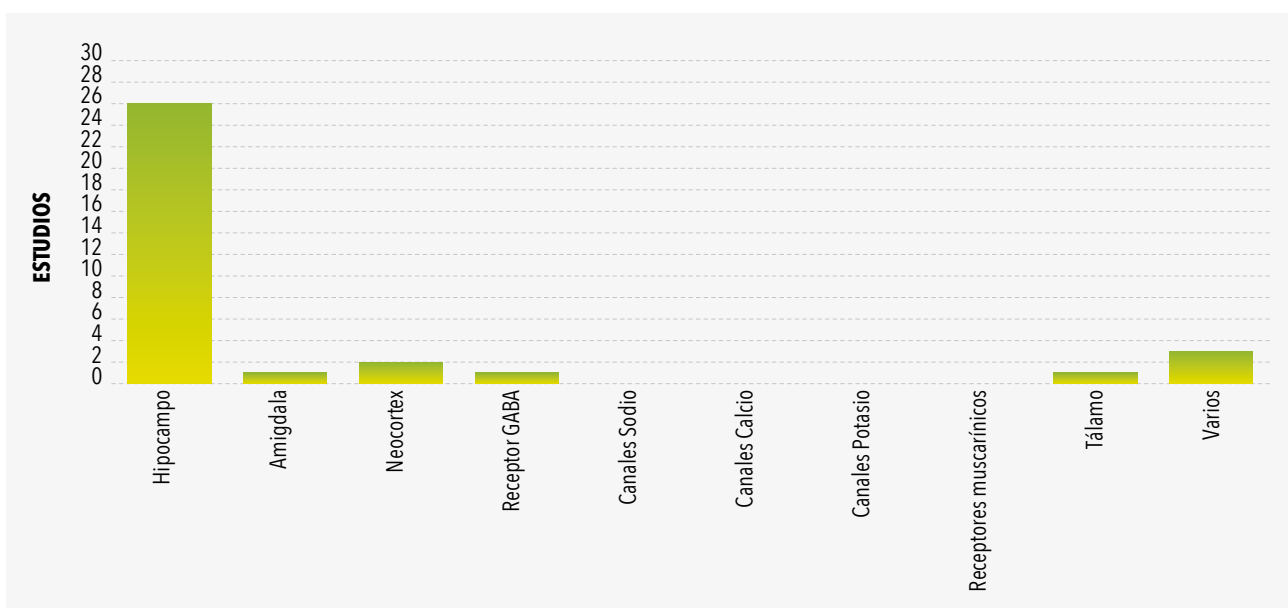


Gráfica 14. Técnicas utilizadas para inducción de convulsiones en estudios *in vitro* de la epilepsia.



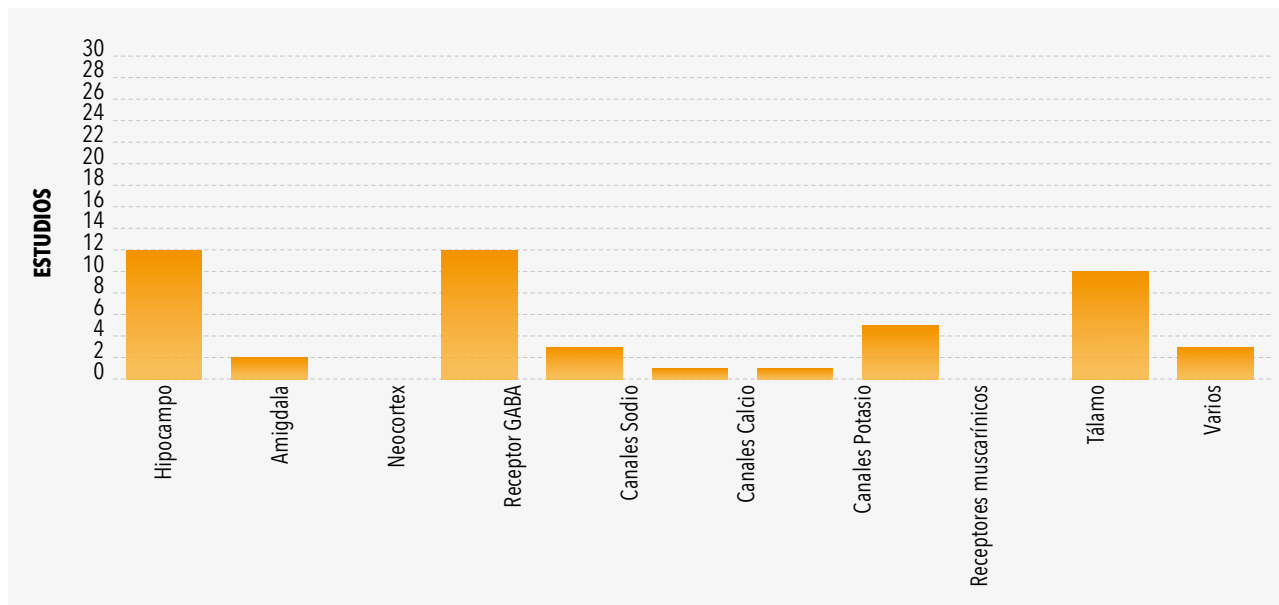
Respecto a las zonas cerebrales donde se dirigen los estudios *in vitro*, se observó que el 33% de las investigaciones se centraron en el estudio del hipocampo (gráfica 14). En los estudios *in vivo*, se obtuvo una mayor variedad de zonas cerebrales, ya que 15% de las investigaciones tomaron como objetivo el hipocampo, 15% se enfocaron hacia el receptor GABA y el 13% hacia otras regiones cerebrales como el cerebelo, tronco encefálico, o combinaciones. Además, se evaluaron otros receptores como los muscarínicos con el 6% y diversos tipos de canales iónicos como: Ca^{2+} , K^{+} y Mg^{2+} .

Gráfica 15. Zonas cerebrales estudiadas en investigaciones *in vitro* de la epilepsia.





Gráfica 16. Zonas cerebrales estudiadas en investigaciones *in vivo* de la epilepsia.



De 46 artículos de investigaciones *in vivo*, solo 7 no hacen mención de alguna aprobación ética por parte de los comités de evaluación de la investigación, guía o norma correspondiente, los demás sí especifican. De los 35 artículos de investigaciones *in vitro*, solo 9 no hacen mención de alguna aprobación ética por parte de los comités de evaluación de la investigación, guía o norma correspondiente, los demás sí especifican. Cabe señalar que los artículos que no mencionan la aprobación ética de investigaciones *in vivo* son de los años 2000-2009 y de los artículos que no se menciona por parte de investigaciones *in vitro*, son de los años 2001, 2002, 2012 y 2013. Por otra parte, los países que no mencionan alguna parte ética son: Estados Unidos, China, Irán, Alemania, Japón, Rusia y Hungría, esto es algo que no debería suceder ya que según las *Guías Operacionales Para Comités de Ética que Evalúan Investigación Biomédica* (WHO, 2000): “Los comités de Ética son responsables de llevar a cabo la evaluación de la investigación propuesta antes de su inicio”, es decir, que si no aparece reportado en el artículo la parte bioética, los estudios revisados no fueron aprobados en su totalidad o las instituciones de investigación no cuentan con comités que revisen y normen la investigación con animales. Debe señalarse que todos los artículos que mencionan la parte ética, sí cumplen las especificaciones redactadas para las especies, según el Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales en México (Navarro et al., 2012) una vez que es seleccionado el modelo animal, se debe especificar: la especie, edad, dieta y características del sistema de alojamiento y de crianza.



6. Conclusión

Los modelos animales de convulsiones y epilepsia siguen siendo fundamentales para muchas investigaciones. Los experimentos en vertebrados, en particular en mamíferos, *in vivo* e *in vitro*, seguirán siendo una parte importante de la investigación fundamental y traslacional en epilepsia. Lo ideal sería utilizar animales que padezcan la enfermedad de forma natural para diseñar experimentos que también los beneficien, otra opción es utilizar ratas modificadas para que padezcan convulsiones, pero su costo es elevado. Dado que el objetivo general es mejorar la calidad de vida y, en algunos casos, evitar la muerte prematura, se debe argumentar que los beneficios superan los daños al animal experimental. Al usar animales en investigación, existe una obligación legal y moral de salvaguardar su bienestar y causarles el menor sufrimiento posible. Esto último, puede favorecer al experimento porque las incomodidades y el estrés antes y durante un experimento pueden llevar a obtener resultados no confiables ni repetibles. En la misma dirección, se debe asegurar que se cumplan las regulaciones protocolares de los comités de experimentación animal en universidades y centros de investigación públicos y privados, quienes deben acatar las recomendaciones científicas, en cada caso.

Referencias

- Aranda, A. y Pastor, L. M. (1997). Ética de la experimentación animal. *Revista Bioética y Ciencias de la Salud*, 3(4), 1-11.
- Aular, Y. (2018). Aspectos bioéticos del uso de animales de experimentación en investigación científica: legislación y comités de bioética animal. *Revista Arjé*, 12(23), 94-103.
- Barker-Haliski, M. L., Friedman, D., French, J. A. y White, H. S. (2015). Disease modification in epilepsy: from animal models to clinical applications. *Drugs*, 75(7), 749-767. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0395-9>
- Barker-Haliski, M. y White, H. S. (2015). Antiepileptic drug development and experimental models. En E. Wyllie, B. E. Gidal, H. P. Goodkin (eds.), *Wyllie's Treatment of Epilepsy* (6.ª ed.). Lippencott, Williams & Wilkins.
- Brooks-Kayal, A. R., Bath, K. G., Berg, A. T., Galanopoulou, A. S., Holmes, G. L., Jensen, F. E., Kanner, A. M., O'Brien, T. J., Whittemore, V. H., Winawer, M. R., Patel, M. y Scharfman, H. E., (2013). Issues related to symptomatic and disease-modifying treatments affecting cognitive and neuropsychiatric comorbidities of epilepsy. *Epilepsia*, 54(Suppl. 4), 44-60. <https://doi.org/10.1111/epi.12298>
- Campos, G., Fortuna, A., Falcão, A. y Alves, G. (2018). *In vivo* and *in vitro* experimental models employed in the discovery and development of antiepileptic drugs for pharmacoresistant epilepsy. *Epilepsy Research*, 146, 63-86. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.07.008>
- Collado-Corona, M. Á., González-Astiazarán, A., Font-Réaulx, E. de, Shkurovich-Bialik, P., Terrazo-Lluch, J., Ramírez-Navarrete, E. et al. (2020). Bioética y epilepsia. *Anales Médicos de la Asociación Médica del Centro Médico ABC*, 65(3), 246-249. <https://doi.org/10.35366/95683>



- Diario Oficial de la Federación. (1987). Reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud.
- Englot, D. J. y Blumenfeld, H. (2009). Consciousness and epilepsy: why are complex-partial seizures complex? *Progress in Brain Research*, 177, 147-170. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(09\)17711-7](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(09)17711-7)
- Gimpel, J. (2009). *Aspectos bioéticos en el uso de animales de experimentación*. Comité Asesor Bioética Fondecyt–Conicyt. Aspectos bioéticos de la experimentación animal. Andros Impresiones.
- Giraldo, L. F. G. y Zuluaga, C. G. (2012). Bioética en la experimentación científica con animales: cuestión de reglamentación o de actitud humana. *Revista lasallista de investigación*, 9(1), 159-166.
- Hernández, S. (2006). El modelo animal en las investigaciones biomédicas. *Biomedicina*, (2), 252-58.
- Jefferys, J. G. (2003). Models and mechanisms of experimental epilepsies. *Epilepsia*, 44(12), 44-50. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2003.12004.x>
- Kandratavicius, L., Balista, P. A., Lopes-Aguiar, C., Ruggiero, R. N., Umeoka, E. H., Garcia-Cairasco, N., Bueno-Junior, L. S. y Leite, J. P. (2014). Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 10, 1693-1705. <https://doi.org/10.2147/NDT.S50371>
- Landínez, A., Tenorio-Sosa, S. y Puentes-Tarazona, V. (2014). Bioética y bienestar animal en medicina veterinaria. *Conexión agropecuaria JDC*, 4(2), 77-87.
- Löscher, W. (2002). Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research*, 50(1-2), 105-123. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(02\)00073-6](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(02)00073-6)
- Löscher, W., Potschka, H., Sisodiya, S. M. y Vezzani, A. (2020). Drug resistance in epilepsy: clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options. *Pharmacological reviews*, 72(3), 606-638. <https://doi.org/10.1124/pr.120.019539>
- Lukawski, K., Gryta, P., Łuszczki, J. y Czuczwar, S. J. (2016). Exploring the latest avenues for antiepileptic drug discovery and development. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 11, 369-382. <https://doi.org/10.1517/17460441.2016.1154840>
- Macrae, D. J. (2007). The Council for International Organizations and Medical Sciences (CIOMS) guidelines on ethics of clinical trials. *Proceedings of the American thoracic society*, 4(2), 176-179. <https://doi.org/10.1513/pats.200701-011GC>
- Mrad de Osorio, A. (2006). Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. *Revista Colombiana de bioética*, 163-183.
- Navarro, J. A., Ramírez, R. A. y Villagrán, C. (2012). *Manual de procedimientos recomendables para la investigación con animales*. Samsara.
- Pérez-Pérez, D., Frías-Soria, C. L. y Rocha, L. (2021). Drug-resistant epilepsy: From multiple hypotheses to an integral explanation using preclinical resources. *Epilepsy & Behavior*, 121, 106430. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.07.031>
- Pérez, L., Ribot, E., Rafael y Romer, Y. (2011). Bioética, un reclamo coherente para el bienestar animal. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 12(12), 1-10.



- Pitkänen, A., Buckmaster, P., Galanopoulou, A. S. y Moshé, S. L. (eds.). (2017). *Models of seizures and epilepsy*. Academic Press.
- Regan, T. (2003). *Animal Rights, Human Wrongs*. Rowman & Littlefield.
- Rubio, C., Rubio-Osornio, M., Retana-Marquez, S., Lopez, M., Custodio, V. y Paz, C. (2010). In Vivo Experimental Models of Epilepsy. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 10(4), 298-309. <http://dx.doi.org/10.2174/187152410793429746>
- Sauer, U. G. (2004). Avoidance of animal experiments in the new EU Chemicals Regulation-opportunities and problems from the point of view of animal welfare. *ALTEX-Alternatives to animal experimentation*, 21(1), 9-14.
- Stables, J. P., Bertram, E., Dudek, F. E., Holmes, G., Mathern, G., Pitkänen, A. y White, H. S. (2003). Therapy discovery for pharmaco-resistant epilepsy and for disease-modifying therapeutics: summary of the NIH/NINDS/AES models II workshop. *Epilepsia*, 44, 1472-1478. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2003.32803.x>
- Stables, J. P., Bertram, E. H., White, H. S., Coulter, D. A., Dichter, M. A., Jacobs, M. P., Löscher, W., Lowenstein, D. H., Moshe, S. L., Noebels, J. L. y Davis, M., (2002). Models for epilepsy and epileptogenesis: report from the NIH workshop, Bethesda, Maryland. *Epilepsia*, 43, 1410-1420. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.06702.x>
- Usanos, R. A. (2017). Viaje a las entrañas del animalismo. *Bioética & debat: tribuna abierta del Institut Borja de Bioètica*, 23(80), 9-13.
- Webster, J. (2002). Animal sentience and animal welfare: What is it to them and what is it to us? *Applied Animal Behaviour Science*, 100(1-2), 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.012>
- Wilson, D. A. H. (2002). Animal psychology and ethology in Britain and the emergence of professional concern for the concept of ethical cost. *Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 33, 235-261. [https://doi.org/10.1016/S0039-3681\(02\)00013-4](https://doi.org/10.1016/S0039-3681(02)00013-4)
- World Health Organization. Product Research and Development Team. (2000). *Guías operacionales para comités de ética que evalúan investigación biomédica*. Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66641>
- Zavala-Tecuapetla, C. y Leonor López-Meráz, M. (2011). Experimental models of epilepsy in the developing rat. *eNEUROBIOLOGIA*, 2(4).