



Aspectos bioéticos de la investigación preclínica para la evaluación farmacológica del suplemento nutricional LECISAN®

Bioethical Aspects of Preclinical Research for the Pharmacological Evaluation of the Nutritional Supplement LECISAN®

Autoras

MSc. Dra. Leidys Cala Calviño

Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba

E-mail: leidyscalacalvino@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-6548-4526>

Lianne Dunán Cala

Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba

E-mail: liannedunancala@gmail.com



Resumen

Siempre deben buscarse técnicas alternativas al uso de animales para el avance del conocimiento científico, pero cuando estas no existan, o las existentes no sean lo suficientemente eficaces, debemos contar con la experimentación animal adoptando una posición bioética. El gran dilema ético, considerado el problema social en esta investigación, es el uso de animales en la experimentación y el cumplimiento de aspectos bioéticos, lo que nos lleva a reflexionar acerca de las ventajas y limitaciones de los métodos que se emplean para lograr resultados científicos, siendo el objetivo de este trabajo. Desde una posición bioética, se debe aceptar el uso de animales para experimentación, pero solo bajo ciertas condiciones. Las investigaciones en el campo de la farmacología, la incorporación de la bioética en el marco de la experimentación clínica y la observación conjunta de todos los resultados, permitirá establecer las bases para proponer indicaciones precisas del producto LECISAN® y su futuro registro como medicamento.

Abstract

Alternative techniques to the use of animals in the pursuit of scientific knowledge should always be sought, but when these do not exist, or when existing techniques are not sufficiently effective, we must use animal experimentation, adopting a bioethical position. The great ethical dilemma, which is the social problem addressed in this research, is the use of animals in experimentation and compliance with bioethical aspects. This leads us to reflect on the advantages and limitations of the methods used to achieve scientific results, which is the objective of this paper. From a bioethical standpoint, the use of animals for experimentation must be accepted, but only under certain conditions. Research in the field of pharmacology, the incorporation of bioethics into the framework of clinical experimentation and the joint observation of all the results will make it possible to establish the basis for proposing precise indications for the product, LECISAN®, and its future registration as a medicine.

Key words

Experimentación animal; bioética; investigación preclínica; ensayos clínicos. *Animal experimentation; bioethics; alternative methods.*

Fechas

Recibido: 17/02/2023. Aceptado: 09/10/2023



1. Introducción

Las ideas de Bernard y de Darwin plantean que las verdades fundamentales de la condición humana podrían examinarse con más claridad y quizá hasta más pulcritud en sistemas animales vivos

El dilema ético en la experimentación animal está en relación con la posible contraposición entre dos valores: posibilidad de causar daño y sufrimiento a los animales en el experimento y la necesidad de estos experimentos para garantizar la seguridad en estudios clínicos. La ética es una rama de la filosofía considerada un saber racional, entonces, esto la convierte en una herramienta para el estudio fundamentado y objetivo de los valores morales. Es por esto que se considera de gran importancia que el investigador muestre sus principios morales cuando va a desarrollar algún tipo de estudio (Salazar-Raymond et al., 2018). Desde una posición bioética, se debe aceptar el uso de animales para experimentación, pero solo bajo ciertas condiciones (Molina et al., 2018; Leyton, 2018).

En la antigüedad, los conocimientos se basaban en buena parte en la observación y la disección anatómica. La investigación animal ha estado desde el principio en el centro de la controversia. En 1543, Andrés Vesalio instauró las bases de la anatomía humana moderna como disciplina científica, al tiempo que puso en duda el valor de la anatomía comparada. Fue en el siglo XIX cuando se incrementaron los trabajos realizados en animales, primero a través de los estudios pioneros del fisiólogo Claude Bernard y luego a través de las enigmáticas teorías de la evolución de Charles Darwin. Las ideas de Bernard y de Darwin plantean que las verdades fundamentales de la condición humana podrían examinarse con más claridad y quizá hasta más pulcritud en sistemas animales vivos. Bernard realizó activamente estudios en animales siendo venerado hasta nuestros días por su uso de la vivisección, sin embargo, Darwin fue muy consciente y percibió el conflicto que conlleva comprender que sus teorías permitían, y hasta cierto punto estimulaban, el uso de la investigación en animales (Aranda-García y Pastor-García, 2016).

Desde el siglo pasado los experimentos con animales han desempeñado un papel crucial en el desarrollo de la medicina moderna, más aún, no se conoce ninguna área de la medicina que no deba muchos de sus principales avances a la experimentación animal. Las primeras leyes de protección a los animales fueron promulgadas en Inglaterra a mediados del siglo XIX y sentaron las bases del abordaje ético en las investigaciones. Posteriormente estas ideas se propagaron a América; a partir de ese momento empezó a contemplarse la dimensión ética de las investigaciones cuando el sujeto experimental era un animal y se comenzó a desarrollar ensayos clínicos experimentales en humanos, partiendo de los resultados obtenidos en experimentación animal (Leyton, 2018; Rosado, 1996).

Otra forma de enfocar la ética en la experimentación con animales y determinar sus límites es la adoptada en 1964 por la Asociación Médica Mundial, reunida en Helsinki. Esta declaró que la investigación médica en sujetos humanos "debe estar basada en pruebas de laboratorio adecuadamente realizadas y en experi-



mentación con animales". En efecto, en los códigos de ética para la investigación biomédica los ensayos con animales son una obligación. Según el Código de Nuremberg, cualquier experimento hecho en seres humanos "debe ser diseñado y basado en los resultados de investigación animal" (Rodríguez-Yunta, 2007).

Se calcula que la experimentación con animales ha ayudado a incrementar la esperanza de vida del hombre en 20 años. Siempre deben buscarse técnicas alternativas al uso de animales para la búsqueda del conocimiento científico, pero cuando estas no existan, o las existentes no sean lo suficientemente eficaces, debemos contar con la experimentación animal (Leyton, 2018).

Sin los estudios preclínicos, la única alternativa sería que los humanos se convirtieran en los sujetos *in vivo*, y ese es un riesgo que la industria farmacéutica

Desde el punto de vista bioético, los animales no son, por sí mismos, sujetos de derechos ni de responsabilidades, pero las personas sí tenemos responsabilidades hacia ellos: los animales no son sujetos morales, pero sí objetos morales

ni organismos regulados aceptarían. Controversialmente, no podemos obtener resultados fieles o exactos tras investigaciones preclínicas, con un nivel de precisión que garantice total extrapolación para el estudio de candidatos a fármacos. Se puede citar, por ejemplo, la prueba de eficacia de candidatos a fármacos para manejo de la depresión y, en casos como este, el riesgo pasa de los animales, a los humanos. No obstante, a estas limitaciones, los animales continúan siendo imprescindibles para la investigación científica. Pese a que en el pasado se utilizaron todo tipo de animales, hoy en día entre el 95 y el 97% de los animales utilizados para experimentación científica se componen de ratas, ratones, monos y perros y, dentro de ellos, los ratones y ratas de laboratorio son la mayoría, con los que compartimos

el 95% de los genes. Cabe destacar que el 76% de los Nobel de medicina desde 1901 han contado con experimentación animal para obtener sus resultados, lo que deja claro su importancia (Leyton, 2018).

Se debe tener en cuenta que una de las características que diferencian al ser humano de otras especies es que es un sujeto ético; es decir, está genéticamente capacitado para prever las consecuencias de sus actos, para hacer juicios de valor y distinguir el bien del mal, eligiendo libremente hacer lo uno o lo otro. Entre las preocupaciones éticas que ha desarrollado el ser humano están el amor a la naturaleza, la defensa medioambiental, la preocupación por la biodiversidad y la bioseguridad. La ciencia nos enseña el valor de la preservación de las especies biológicas y de la integridad de los ecosistemas. Por otra parte, desde el punto de vista bioético, los animales no son, por sí mismos, sujetos de derechos ni de responsabilidades, pero las personas sí tenemos responsabilidades hacia ellos: los animales no son sujetos morales, pero sí objetos morales. Aun admitiendo que los animales no tuvieran capacidad moral, tampoco queda justificado el ejercer crueldad sobre ellos y la responsabilidad de no ocasionar daños innecesarios recae en el ser humano (Mukerjee y Writer, 1997; Rodríguez-Yunta, 2007).

La ciencia debe abordarse desde la perspectiva de los problemas gnoseológicos y metodológicos y como un tipo de actividad social que requiere de un estudio sistemático de las interrelaciones entre ella, la tecnología y la sociedad (Bayés-



Cáceres et al., 2019). Para la solución de problemas sociales se requiere de conocimiento; son múltiples los últimos avances en el mundo obtenidos tanto en estudios clínicos, como en laboratorios, datos estadísticos y hallazgos científicos, que tienen énfasis crítico sobre todas aquellas cuestiones que aún no han sido fehacientemente demostradas en el campo de la investigación (Ortega-Suárez et al., 2018).

Se propone corroborar, sobre bases científicas, los efectos que puedan justificar su uso terapéutico de manera racional en enfermedades que generan mayor morbimortalidad en la actualidad, lo que permitirá el mejoramiento de la salud y calidad de vida de la población cubana

En los últimos años se han realizado múltiples investigaciones para develar los efectos nutricionales de la soja y su impacto en la salud humana. A partir de su composición se teoriza acerca de las propiedades y variados usos de la soja. La lecitina de soya cuenta con propiedades antioxidantes y excelentes atributos nutricionales, presentes en el LECISAN®, producto natural registrado como suplemento nutricional por el Laboratorio Farmacéutico Oriente, en nuestro país. Existe un incremento del consumo de este producto a nivel global, y los suplementos dietéticos que contienen lecitinas de soja son de los más utilizados en el mundo, sin embargo, es ampliamente utilizado por otras propiedades que se le confieren, como el efecto hipolipemiante y adelgazante (Cala-Calviño et al., 2017; Lemus et al., 2017).

También ha cobrado relevancia el descubrimiento de moléculas clave que actúan como blancos terapéuticos, así como sus conexiones y mecanismos existentes, tal es el caso de los ácidos grasos de la serie omega (n-3, n-6), presentes en las leguminosas como la soja. Es sabido lo difícil que es la obtención de nuevos fármacos naturales como alternativas o terapias complementarias en enfermedades crónicas no transmisibles como la obesidad y las dislipemias, de ahí parte la idea del estudio de este suplemento, como posible candidato a fármaco en el tratamiento de las mismas (Cala-Calviño y Morris-Quevedo, 2022).

Tras la evaluación del LECISAN®, que destaca por sus potencialidades, investigadores de la Universidad Médica de Santiago de Cuba proponen el desarrollo del proyecto sectorial Efectos nutricionales, farmacología y toxicología preclínica del LECISAN® (PS1086 02SC-002), con un diseño metodológico que contempla estudios experimentales in vivo, in vitro e in silico para ofrecer un aporte a la farmacología del producto. Se propone corroborar, sobre bases científicas, los efectos que puedan justificar su uso terapéutico de manera racional en enfermedades que generan mayor morbimortalidad en la actualidad, lo que permitirá el mejoramiento de la salud y calidad de vida de la población cubana, aspecto en el cual radica el aporte social del presente trabajo.

La investigación tiene como problema científico la insuficiente evidencia científica de los efectos biológicos del LECISAN® y los mecanismos moleculares de producción de los mismos con el supuesto de que este suplemento nutricional modifica parámetros bioquímicos y de composición corporal, modulando sistemas efectores relacionados con la regulación del metabolismo lipídico, el estado oxidativo metabólico y la competencia inmune. Si se demuestran estos supues-



tos, con la investigación preclínica que se propone, pudiera considerarse como un potencial medicamento natural.

El gran dilema ético, considerado el problema social en esta investigación, es el uso de animales en la experimentación propuesta en dicho proyecto y el cumplimiento de aspectos bioéticos, lo que nos lleva a reflexionar acerca de las ventajas y limitaciones de los métodos que se emplean para lograr resultados científicos, siendo el objetivo de este trabajo.

2. Investigación científica con animales

La investigación científica con animales es hoy más reducida, extremadamente controlada para no infligir dolor y tiende a encontrar modelos alternativos, pero de momento ningún sistema artificial puede recrear la complejidad de un organismo vivo (Beauchamp, 1992; Vega-Ángeles y Ortiz-Millán, 2021). Los principios de las tres erres (reemplazar, reducir y refinar) promueven la utilización de alternativas al uso de animales en las pruebas con medicamentos, primando la salvaguarda del rigor científico y mejorando el bienestar animal cuando el uso de los animales no pueda evitarse. Siempre deben cumplirse los estándares de bienestar en el tratamiento de los animales en todos los aspectos del desarrollo, fabricación y pruebas con medicamentos (Russell y Burch, 1959). Existen normativas a nivel internacional, descritas en Código Sanitario para los Animales Terrestres (2023) (OMSA, 2023), y en la directiva 2010/63/UE del parlamento europeo y del consejo (UEOD, 2010), cuyo fin es proteger a los animales usados con fines científicos y con el objetivo último de reemplazar toda la investigación con animales por métodos alternativos (CARE, 2017; Pérez-López et al., 2018).

La investigación científica con animales es hoy más reducida, extremadamente controlada para no infligir dolor y tiende a encontrar modelos alternativos, pero de momento ningún sistema artificial puede recrear la complejidad de un organismo vivo

El principio de reemplazo se pone en práctica cuando se utilizan, siempre que sea posible, un procedimiento, métodos o estrategias de ensayo científicamente satisfactorios que no conlleven la utilización de animales vivos, por ejemplo, cultivos de tejidos, ensayos in vitro, simulación con modelos de computadoras o sustituir mamíferos por animales invertebrados. Reemplazar conlleva sustituir mediante el uso de técnicas alternativas y técnicas de simulación. La fundación para alternativas en el uso de animales de experimentación, procura encontrar nuevas técnicas para la sustitución de los animales para la investigación. Existen innumerables áreas en las que no es posible usar alternativas como: investigaciones de comportamiento del dolor, cirugía experimental, acción de drogas, entre otros, que constituyen limitaciones en su aplicación (Herrmann, 2019).

El principio de reducción implica optimizar los recursos en el diseño experimental, utilizando el menor número de animales, siempre que ello no comprometa los objetivos del proyecto, ni se alteren los resultados estadísticos significativos



El refinamiento implica perfeccionar métodos y técnicas utilizados en procedimientos para reducir al mínimo el dolor, sufrimiento, angustia o daño permanente a los animales

(Pérez-López et al., 2018). El refinamiento implica perfeccionar métodos y técnicas utilizados en procedimientos para reducir al mínimo el dolor, sufrimiento, angustia o daño permanente a los animales. Es por ello que los proyectos que contemplan la experimentación animal valoran el uso de analgésicos, anestésicos y el enriquecimiento ambiental, es decir, mejorar su bienestar tanto físico como psicológico identificando y proporcionándoles los estímulos ambientales necesarios para optimizar calidad de vida del biomodelo, la calidad del ambiente y el mantenimiento de medios de cultivo. Involucra también la estandarización de los modelos utilizados (Pérez-López et al., 2018; Herrmann, 2019).

Según Rodríguez-Yunta (2007), entre las posturas extremas de condenar toda investigación con animales considerándola irrelevante y la de exagerar y promocionar el importante papel de la investigación con animales como modelo para enfermedades humanas, se adopta la postura intermedia de considerar el uso de animales en investigación como necesario en el estado actual de la ciencia, para ajustarse al imperativo moral de curar y prevenir enfermedades humanas, pero buscando formas de reemplazar y reducir el número de animales y de disminuir su sufrimiento.

La aplicación del principio de las tres erres trae consigo una serie de ejercicios valóricos, que pueden servir como modelos para el estudio de escenarios alternativos de solución de conflictos, además de aquellos inherentes a la experiencia de la ciencia humanitaria. La responsabilidad, como marco general de reflexión, plantea que la ciencia y la investigación en particular, no tiene valor absoluto, sino que se ponen al servicio de la persona, la sociedad y el uso sustentable del ambiente (Pérez-López et al., 2018).

3. Respaldo de la investigación bajo un proyecto

García et al. (2019) sugieren utilizar los fundamentos que están en proyectos aprobados para realizar el análisis de los problemas sociales relacionados con la investigación. La aprobación de proyectos de investigación biomédica y prácticas en animales depende de los comités de ética para el cuidado y uso de animales, quienes deben evaluar los aspectos éticos y metodológicos para garantizar el buen manejo y uso de los animales. Deben ser evaluados aspectos que van desde la obtención de los biomodelos de un proveedor reconocido, tenencia y manejo, alimentación, procedimientos para obtención de resultados y hasta su muerte o método de eutanasia, incluso el destino final de los mismos (Herrmann, 2019; Heredia et al., 2021).

El desarrollo de un nuevo medicamento es un proceso largo y costoso cuyo objeto es investigar en distintas fases, preclínicas y clínicas, que el nuevo fármaco reúne los requisitos de calidad, seguridad y eficacia, exigidos para su co-



mercialización y administración al ser humano. Es un proceso complejo en el que la investigación y la simultánea toma de decisiones, van encaminadas a la identificación y validación de una diana de terapéutica; se trata de seleccionar, entre un importante número de compuestos, aquel que, por sus características farmacocinéticas, farmacodinamias y de toxicidad, sea más eficaz, seguro y de fácil manejo clínico (Zurita-Cruz et al., 2019). Todo esto requiere un notable esfuerzo humano y de recursos técnicos y económicos, por este motivo se valora como favorable la participación de varios centros calificados y certificados para la misma, lo que garantiza el cumplimiento de normas éticas relacionadas con el cuidado y protección animal.

Es un proceso complejo en el que la investigación y la simultánea toma de decisiones, van encaminadas a la identificación y validación de una diana de terapéutica

La investigación propuesta se lleva a cabo con la participación del Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED), el Laboratorio de Ciencias Básicas Biomédicas de la Universidad de Ciencias Médicas (LCBB), el Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX-cim) de Santiago de Cuba y el Centro de estudios de Biotecnología Industrial (CEBI) de la Universidad de Oriente. Las tareas de investigación del proyecto se planifican en tres etapas de su diseño.

3.1. Primera etapa

Se realiza un estudio de farmacología preclínica experimental utilizando el producto suministrado como materia prima por la planta procesadora de soya a los Laboratorios Farmacéuticos Oriente, para la producción del producto registrado LECISAN®. Se emplearán como biomodelos ratas wistar, conformando grupos de experimentación que recibirán el producto de ensayo y un grupo control con alimentación libre de lecitina de soya, lo que permitirá la comparación. De cierta manera, un adecuado diseño, que permita aplicar técnicas bioestadísticas con aporte de resultados estadísticamente significativos, es también parte del refinamiento en la investigación. El objetivo principal en esta fase es determinar el efecto del producto ensayado sobre la composición corporal de las ratas. Se realiza en un modelo in vivo, mediante bioimpedancia eléctrica, técnicas de disección corporal y análisis de parámetros antropométricos.

3.2. Segunda etapa

Se realiza un estudio de farmacología preclínica experimental para determinar el efecto sobre el perfil lipídico, hematológico, inmunológico y el estado oxidativo. Los resultados de los estudios in vivo se complementan con varios ensayos in vitro para evaluar la actividad antioxidante y de igual manera los resultados hematológicos e inmunológicos.



3.3. Tercera etapa

El protocolo en la investigación, prevé el uso de anestesia por vía intraperitoneal, que se administra por investigadores expertos en estos procedimientos, y evita el sufrimiento animal

Con el uso de herramientas bioinformáticas o ensayos *in silico* se realiza simulación del acoplamiento molecular entre ligando y receptor (Docking molecular), lo que predice orientación y posición en sitio activo escogiendo unión más probable, teniendo en cuenta elementos como la energía libre (ΔG), eficiencia del enlace (EL) y constante de disociación (Ki) (Ballón-Paucara y Grados-Torrez, 2019; Pinzi y Rastelli, 2019). Junto al análisis estadístico-matemático de los datos, estos procedimientos facilitan un avance en el entendimiento de los efectos preclínicos del producto sobre parámetros nutricionales a partir del estudio de la estructura y funciones moleculares, la predicción de la fuerza de asociación o la afinidad de enlace, con la ayuda de modelos computacionales, son elementos claves para el entendimiento de los posibles mecanismos de producción tanto de los efectos farmacológicos, como de los efectos tóxicos. La asociación entre moléculas biológicamente relevantes, juega un papel central en la transducción de señales y esto llevará a un mayor entendimiento de la farmacología del producto (Torres et al., 2019).

Los resultados de ensayos *in vivo* e *in vitro* efectuados en las dos primeras etapas, permitirán identificar las biomoléculas objeto de simulación molecular en la tercera etapa. La aprobación de un protocolo invasivo no garantiza que se obtendrá un beneficio, pero sí implica que se impondrá un daño a los animales, entonces, cuando los procedimientos causen dolor, se debe evitar con el empleo de anestesia o analgesia, refinando la metodología (Herrmann, 2019). El protocolo en la investigación, prevé el uso de anestesia por vía intraperitoneal, que se administra por investigadores expertos en estos procedimientos, y evita el sufrimiento animal relacionado con el dolor que puedan experimentar tras la colocación de los electrodos y el paso de la corriente eléctrica que lleva implícito el método propuesto (Cala-Calviño et al., 2021). Se planifica como método de eutanasia la dislocación cervical, como un método simple y común aplicado en pequeños animales causando inconsciencia inmediata y muerte instantánea tras la separación de las vértebras cervicales del cráneo; este método se efectúa con rapidez y permite la obtención de tejidos sin contaminación química (Pérez y Melgar, 2015).

4. La obtención de resultados científicos

Gran parte de los estudios, que se llevan y se han llevado a cabo habitualmente en animales de experimentación, proporcionan resultados que no siempre han podido ser extrapolados al hombre, aun siendo de gran valor para la evaluación toxicológica. La idea de que la mayor parte de los efectos observables en el animal (tanto farmacológicos, como toxicológicos) son escalables en función de



Dentro del cuestionamiento ético a la experimentación con animales está el hecho de que los resultados no se pueden extrapolar del todo a la salud humana y se requiere que, de todos modos, se realice investigación en seres humanos

parámetros tales como peso, tamaño relativo de órganos, superficie corporal, etc., tienen en el metabolismo la prueba más evidente de su inexactitud, lo cual está relacionado con las variaciones en sistemas enzimáticos entre especies. Este hecho constituye una de las limitaciones en la investigación preclínica o no clínica, como se conoce actualmente (Leyton, 2018).

La acción farmacológica de un compuesto in vivo depende de la biodisponibilidad, y que lo haga en un rango de concentración establecida, por encima o por debajo del cual no ejercerá una acción eficaz, o bien manifestará reacciones adversas. De cara a un uso racional de los animales, en aquellos experimentos en los que ineludiblemente deba hacerse uso de ellos, se debe considerar que el confinamiento en laboratorios distorsiona la respuesta natural de los animales y el estrés sufrido por los animales enjaulados tiene una gran influencia alterando respuestas

fisiológicas y el correcto desarrollo corporal (Nuffield Council on Bioethics, 2005; Rodríguez-Yunta, 2007).

La investigación se lleva a cabo con ratas de la línea wistar, consideradas como el biomodelo universal, lo que consideramos adecuado al aplicar el principio de refinamiento. La biotecnología ha permitido el avance científico-técnico y ha procurado una vida mejor, pero no hacer un uso reflexivo y controlado de este conocimiento podría poner en riesgo nuestra vida y la de futuras generaciones, aspecto que se analiza en este proyecto considerando el no uso de biomodelos modificados genéticamente (Cala-Calviño et al., 2021).

Dentro del cuestionamiento ético a la experimentación con animales está el hecho de que los resultados no se pueden extrapolar del todo a la salud humana y se requiere que, de todos modos, se realice investigación en seres humanos (Rodríguez-Yunta, 2007). Cuando un investigador utilice alternativas que reemplacen, reduzcan el número de animales utilizado y refinen las técnicas empleadas, siempre debe considerarse las ventajas y limitaciones en el diseño de la investigación (Morales, 2015; Herrmann, 2019).

Aunque solamente algunos métodos in vitro se han aceptado desde el punto de vista regulatorio, otros se encuentran en fase muy avanzada de prevalidación o validación. Los métodos in vitro se usan principalmente para el cribado rápido e identificación de efectos tóxicos pero la información que proporcionan es en muchas ocasiones parcial. Aun así, hoy en día, no cabe ninguna duda de que ofrecen ventajas intrínsecas muy destacables para la evaluación de nuevos fármacos, dada su simplicidad, disponibilidad, bajo coste, fácil control de las variables experimentales, necesidad de cantidades muy pequeñas de la molécula en estudio y la posibilidad de realizar los estudios en etapas muy tempranas del desarrollo de un medicamento (Martínez-Hidalgo, 2021; de las Heras, 2021).

Para los defensores de animales es esencial saber cuál es la necesidad de usar modelos animales cuando existen métodos alternativos, tales como los mode-



los matemáticos de simulaciones de computación y los cultivos celulares. Sin embargo, estos procedimientos pueden servir para reducir el número de animales en experimentación, pero no pueden predecir con fiabilidad el efecto de un producto químico en los sistemas de órganos combinados del cuerpo con toda la complejidad requerida; se utilizan para examinar y determinar el potencial tóxico de una sustancia en fases iniciales de investigación, reduciendo así el número total de animales requerido, pero el examen final debe realizarse en un sistema completo y vivo. La más sofisticada tecnología no puede imitar las complicadas interacciones entre células, tejidos y órganos que se dan en humanos y animales. Los científicos deben entender estas interacciones antes de introducir un nuevo tratamiento o sustancia en el organismo humano (Rodríguez-Yunta, 2007).

Los cultivos de células permiten el uso de una baja y definida concentración de reactivos, pero las células procedentes de organismos multicelulares no pueden desarrollarse en medios de cultivo sin suplementos. Para el desarrollo de la mayoría de las líneas celulares empleadas en estudios *in vitro*, se requiere la adición al medio de hormonas y otras sustancias reguladoras y control fisicoquímico (pH, temperatura, presión osmótica, tensión de oxígeno y gas carbónico para las células cultivadas) para que las condiciones fisiológicas sean constantes y actualmente se invierte bastante en ensayos o procedimientos preparativos que pueden ayudar en la estandarización del proceso. En los cultivos celulares se dificulta correlacionar las características funcionales de las células ubicadas en el tejido del cual son derivadas, pues en la mayoría de los casos presentan propiedades muy diferentes; se necesita la utilización de marcadores celulares para la caracterización en cultivo y garantizar que las células aisladas y propagadas en cultivo son las mismas que se sembraron. Estos elementos a grandes rasgos, constituyen limitantes para estos estudios y deben considerarse al planificar una investigación de farmacología preclínica (Martínez-Hidalgo, 2021; de las Heras, 2021).

En la segunda etapa de este proyecto se realiza el análisis morfométrico de tejidos diana que constituyen depósitos grasos de interés en cuanto al riesgo que supone su incremento para la salud (Campa-Fernández, 2017). Examinando estos cambios de expresión, en células y tejidos, en respuesta a los fármacos, es posible a su vez elaborar hipótesis sobre el mecanismo de toxicidad. Es evidente que la extrapolación *in vivo* de los resultados experimentales observados *in vitro* es, sin lugar a dudas, el aspecto crucial en la utilización de los modelos celulares. Su valor predictivo, en la evaluación del riesgo de toxicidad para el hombre de nuevas moléculas, depende de un análisis muy cuidadoso de la información obtenida *in vitro* y de su correcta elaboración e interpretación (Mitchell, 2013).

Los diferentes tejidos que constituyen a los organismos multicelulares se encuentran en un proceso de continua adaptación a los diferentes estímulos que reciben. La señalización que perciben y su integración favorecen respuestas celulares básicas, destacan entre ellas la proliferación celular, la diferenciación y

La más sofisticada tecnología no puede imitar las complicadas interacciones entre células, tejidos y órganos que se dan en humanos y animales



la muerte celular (Mitchell, 2013). El descontrol de dichas respuestas se relaciona a su vez con el desarrollo de enfermedades como el cáncer, enfermedades crónicas degenerativas o inflamatorias, en las cuales las especies reactivas de oxígeno (EROs) forman parte de los mecanismos que participan en su origen o desencadenan efectos adversos secundarios (Hernández et al., 2020; Revilla-Flores, 2021).

Debido a las voces que se han alzado en contra del sufrimiento innecesario de animales en experimentación, se ha evaluado en el plano internacional el análisis de los riesgos y ventajas de la investigación científica. Esta actitud es constructiva y contribuye a mejorar el conocimiento de la sociedad sobre las virtudes de la investigación científica y a reducir los riesgos de su aplicación (Mukerjee y Writer, 1997; Rodríguez-Yunta, 2007).

Si bien algunos aspectos de la investigación biomédica están dependiendo menos del animal entero y buena parte del trabajo se hace ahora en preparaciones aisladas, aún es inevitable la etapa de experimentación animal, reducida en sus dimensiones, enriquecida por cuidados especiales, pero necesaria al fin

A pesar de que algunas estadísticas apuntan a una disminución del número de animales utilizados en investigación, la realidad es que se continúan utilizando con fines investigativos e incluso está aumentando el uso de animales genéticamente modificados (Lara O'Farril, 2021). Si bien algunos aspectos de la investigación biomédica están dependiendo menos del animal entero y buena parte del trabajo se hace ahora en preparaciones aisladas, aún es inevitable la etapa de experimentación animal, reducida en sus dimensiones, enriquecida por cuidados especiales, pero necesaria al fin (Mukerjee y Writer, 1997).

La era digital cambió por completo el paradigma clásico de estudio en todas las áreas de la ciencia y el sector salud no ha sido ninguna excepción en esta revolución. La transición y digitalización de muchos procesos ha traído consigo nuevas formas de entender el proceso salud-enfermedad, uno de estos abordajes

son los estudios *in silico*. Pertenecen a una rama de la biología computacional cuyo objetivo es explorar y experimentar con procesos biológicos por medio de simulaciones hechas en computadora. Este nuevo enfoque digital ha permitido visualizar las estructuras tridimensionales de numerosos péptidos, observar el rol y función de diferentes moléculas, proteínas o bien de una célula completa hasta poder llegar a predecir respuestas a estímulos a través de la modelación con experimentos *in silico*. Un ejemplo perfecto de la aplicación de esta tecnología es en el área de farmacología, ya que ayuda a predecir la eficacia de posibles moléculas terapéuticas (Vargas-Aguilar y Fuentes-Condori, 2021).

Los métodos matemáticos QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) se basan en la relación estructura/función para considerar la actividad biológica de un fármaco. Debido a su naturaleza empírica adolecen de total fiabilidad y seguridad en las predicciones; lo que resulta una limitación para la investigación, por lo que todavía requieren una mayor y más adecuada definición de los parámetros necesarios para implementar el análisis. Aunque los modelos *in silico* no reemplazan a los modelos convencionales tanto *in vitro* como *in vivo*, constituyen un complemento muy valioso. El desarrollo de los llamados uHTS (ultra-high



through put screening methods), está permitiendo mediante el uso de sistemas celulares, caracterizar y cuantificar con rapidez, precisión, seguridad y sensibilidad las moléculas (Prieto-Martínez y Medina-Franco, 2018). El cribado de alto rendimiento (uHTS) es el método estándar para el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos, se lleva a cabo mediante pruebas experimentales al evaluar la acción que ejercen sobre los sistemas vivos. Sin embargo, requiere de proceso largo, costoso y al final un bajo índice de moléculas son aprobadas para uso clínico (Prieto-Martínez y Medina-Franco, 2018).

La aplicación y desarrollo de ese tipo de métodos alternativos basados en estrategias computacionales, también conocidas como metodologías in silico, permiten seleccionar candidatos terapéuticos a partir grandes bibliotecas de compuestos activos, lo que mejora el método de diseño y uso racional de moléculas farmacéuticas

Este progreso no habría sido posible sin la colaboración de la bioinformática, que permite el tratamiento de datos a una escala impensable hace pocos años. A pesar de sus limitaciones el método de uHTS es el más utilizado por la industria farmacéutica y constituye una alternativa valiosa para reducir el número de animales con fines experimentales. La aplicación y desarrollo de ese tipo de métodos alternativos basados en estrategias computacionales, también conocidas como metodologías in silico, permiten seleccionar candidatos terapéuticos a partir grandes bibliotecas de compuestos activos, lo que mejora el método de diseño y uso racional de moléculas farmacéuticas.

Una de las metodologías in silico más utilizadas en el mundo es el tamizaje virtual intensivo basado en la estructura proteica (obtenidas del Protein Data Bank) que se usa para predecir la unión de un ligando con su receptor mediante el uso de grandes bases de datos. A la fecha, no existe una mejor alternativa al uHTS, que el tamizaje virtual basado en la estructura proteica y el reposicionamiento virtual de fármacos utilizando herramientas bioinformáticas. El reposicionamiento virtual tiene gran impacto pues permite identificar nuevos usos de un medicamento ya aprobado (Ballón-Paucara y Grados-Torrez, 2019).

5. El papel de las regulaciones relacionadas con la investigación con animales de laboratorio

La opinión pública en contra de la utilización de animales experimentales demanda compuestos más eficaces y también más seguros, para la investigación (Heredia-Antúnez et al., 2021). Sin embargo, una nueva conciencia sobre un uso limitado y más racional de los animales de experimentación ha tomado carta en nuestro entorno cultural, y la demanda social de utilizar métodos alternativos, expresada a través de distintos grupos sociales y políticos, se ha traducido en una mayor presión sobre industrias y gobiernos. El propio Parlamento Europeo se hizo eco de esta demanda social tomando la iniciativa legislativa en su directiva (86/609/CEE), pronunciándose también la American Psychological Association (CARE, 2022). Ello ha potenciado de forma extraordinaria el desarrollo de los



modelos in vitro alternativos a la experimentación animal, para estudios de actividad farmacológica y toxicológica en estas fases iniciales del desarrollo que permiten de manera eficaz, reducir el número de posibles candidatos a fármaco (Vega-Ángeles y Ortiz-Millán, 2021).

La validación de métodos alternativos se define como el proceso por el cual se establece la fiabilidad e importancia de un método con un objetivo bien definido. La fiabilidad está relacionada con la reproducibilidad intra e interlaboratorio, así como la transferibilidad. Dentro de lo posible deben escogerse métodos ya

validados, aunque la importancia del método se basa en las bases científicas que lo sustentan y en su capacidad predictiva. La validación se realiza por órganos independientes como el European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing (EURL-ECVAM) y sus homólogos en los Estados Unidos (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, ICCVAM), Japón (Japanese Center for Validation of Alternative Methods, JACVAM) y Canadá (Environmental Health Science and Research Bureau), en Corea del Sur (Korean Center for the Validation of Alternative Methods, KoVAM) y en Brasil (Brazilian Center for the Validation of Alternative Methods, BRACVAM). Todos estos centros colaboran estrechamente con el objetivo de conseguir a nivel mundial la validación de métodos alternativos a la experimentación animal (Grimm et al., 2019).

La atención a cada una de las etapas del diseño y evaluación de proyectos es a menudo subestimada tanto por los científicos como por los integrantes de comités, quienes deben asumir la responsabilidad de disminuir el dolor y el malestar de los ani-

males a lo largo de la investigación. Bajo esta necesidad surgen los Comités Institucionales de Cuidado y Uso de Animales, conocidos como CICUA, o Comités de Bioética Animal (CBA). Estos Comités en EE. UU. se denominan Institutional Animal Care and Use Committees (IACUC) y Comités Éticos de Experimentación Animal (CEEA) en la Unión Europea (UE). En todos los casos están legalmente establecidos los preceptos de la Directiva 2010/63/UE como una de las normativas internacionales establecidas y tienen por objetivo supervisar y evaluar continuamente el Programa de Cuidado y Uso de Animales (Tadich et al., 2020).

La ciencia y tecnología de la experimentación animal comprende varios campos de conocimientos y quien se desenvuelve profesionalmente en ella, se involucra en un mundo de sensibilidad y respeto por todos los seres vivos, por el dolor, por el malestar, por el futuro del mundo, y por tratar de ser más tolerantes y menos violentos.

El progreso de la Farmacología se ha relacionado estrechamente con el progreso de disciplinas tales como la química, la bioquímica, la clínica y muy articuladamente con la biología molecular, la biotecnología y la bioinformática. La interacción de todas estas disciplinas y tecnologías ha incrementado la eficacia del

La ciencia y tecnología de la experimentación animal comprende varios campos de conocimientos y quien se desenvuelve profesionalmente en ella, se involucra en un mundo de sensibilidad y respeto por todos los seres vivos, por el dolor, por el malestar, por el futuro del mundo, y por tratar de ser más tolerantes y menos violentos



La interacción de todas estas disciplinas y tecnologías ha incrementado la eficacia del descubrimiento de fármacos y de nuevas entidades moleculares de potencial acción farmacológica, cuya consecuencia es la generación rápida y eficiente de nuevas estructuras químicas

descubrimiento de fármacos y de nuevas entidades moleculares de potencial acción farmacológica, cuya consecuencia es la generación rápida y eficiente de nuevas estructuras químicas. Las nuevas metodologías ómicas, junto con las aportaciones de los métodos *in vitro* e *in silico*, constituyen en la actualidad una estrategia farmacológica multidisciplinar para el desarrollo de herramientas terapéuticas con una utilidad y eficacia sin precedentes (Vargas-Aguilar y Fuentes-Condori, 2021).

En la experimentación animal existe una obligación legal y moral de salvaguardar su bienestar. Lo anterior además suele ser positivo para el propio proceso experimental, ya que las incomodidades y el estrés antes y durante un experimento, pueden llevar a obtener resultados no confiables ni repetibles, aspecto que también constituye una limitación. Las investigaciones en torno a los límites éticos de la investigación biomédica deberían abordar de manera explícita esta transformación gradual de la comprensión de la vida animal humana y no humana, su valor y sus implicaciones.

6. Consideraciones finales

Las nuevas e innovadoras alternativas de estudio propuestas en este proyecto de investigación tienen gran relevancia dentro de los aportes científicos que se pretenden alcanzar. Las conclusiones de los estudios realizados deben manejarse cuidadosamente a partir del resultado *in vitro*, tomando en consideración las limitaciones expresadas relacionadas con la extrapolación a humanos en estudios clínicos, ya que no pueden tenerse en consideración variables presentes en un organismo funcionando como un todo.

El uso de métodos *in silico* para el análisis de fármacos potenciales, como el suplemento estudiado, se consideran alternativas para reducir el uso de animales en la experimentación. Las investigaciones en el campo de la farmacología, tomando en consideración los aspectos bioéticos analizados y la observación conjunta de todos los resultados, permitirá establecer las bases para proponer indicaciones precisas del producto LECISAN® y su futuro registro como medicamento, insertando cambios organizacionales positivos en los programas de prevención del riesgo de enfermedades en grupos vulnerables y aportando una mejoría en los indicadores sociales de la salud, al contribuir con la modificación de parámetros nutricionales y sus consecuencias negativas sobre la salud.



Referencias

- Aranda-García, A. y Pastor-García, L. M. (2016). Ética de la experimentación con animales. *Revista Bioética y Ciencias de la Salud*, 3(4). https://www.bioeticacs.org/iceb/seleccion_temas/experimentacionAnimales/invest_animales.pdf
- Ballón-Paucara, W. G. y Grados-Torrez, R. E. (2019). Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Revista CON-CIENCIA*, 7(2), 55-72. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652019000200006&lng=es&tlng=es
- Bayés-Cáceres, E., León-Robaina, R., Cáceres-Diéguez, A. y Acosta-Ortega, L. (2019). Aspectos sociales de la ciencia y la tecnología en la formación investigativa de los estudiantes de estomatología. *MEDISAN*, 23(5), 981-993. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192019000500981&lng=es&tlng=es
- Beauchamp, T. L. (1992). The moral standing of animals in medical research. *Law Med Health Care*, 20, 7-16. <https://doi.org/10.1111/j.1748-720X.1992.tb01169.x>
- Cala-Calviño, L. y Morris-Quevedo, H. (2022). LECISAN® y sus potencialidades terapéuticas para el abordaje farmacológico de la obesidad. *Revista Cubana de Endocrinología*, 32(3). <http://www.revendocrinologia.sld.cu/index.php/endocrinologia/article/view/316>
- Cala-Calviño, L., Casas-Gross, S., Rodríguez-Casero, R. y Morris-Quevedo, H. (2021). Efectos de la lecitina de soya sobre parámetros antropométricos en ratas Wistar. *Revista Cubana de Farmacia*, 54(4). <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/605/444>
- Cala-Calviño, L., Sánchez-Hechavarria, M. E. y García-Torres, D. S. (2017). Aspectos farmacológicos de la lecitina de soya y sus posibles aplicaciones médicas. *MEDISAN*, 21(1), 83-95. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192017000100010&lng=es&tlng=es
- Campa-Fernández, V. M. (2017). Consideraciones éticas en el análisis de imágenes digitales. En V. M. Campa-Fernández (ed.), *Análisis de imágenes de microscopía con ImageJ* (pp. 9-14). Create-Space Publishing. https://www.researchgate.net/publication/313768335_Analisis_de_Imagenes_de_Microscopia_con_ImageJ
- CARE. (2017). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8.ª ed.). National Research Council. <https://nap.nationalacademies.org/catalog/12910/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals-eighth>
- CARE. (2022). *Guidelines for Ethical Conduct in the Care and Use of Nonhuman Animals in Research*. Committee on Animal Research and Ethics (CARE). American Psychological Association. <https://www.apa.org/science/leadership/care/guidelines>
- García, C. J., Valcárcel, I. N., Rodríguez, D. C. R., Rodríguez, G. R., Llosa, S. M. y Correa, Z. Z. S. (2019). Un acercamiento a problemas sociales de las ciencias y las tecnologías: apuntes para su análisis. *Revista Cubana de Tecnología de la Salud*, 10(1), 101-105. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubtecsal/cts-2019/cts1911.pdf>
- Grimm, H., Olsson, I. A. S. y Sandøe, P. (2019). Harm benefit analysis what is the added value? A review of alternative strategies for weighing harms and benefits as part of the assessment of animal research. *Laboratory Animals*, 53(1), 17-27. <https://doi.org/10.1177/0023677218783004>



- Heras, B. P. de las. (2021). Natural products: From traditional medicine to lead compounds for drug development in the 21st century. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*, 87(1), 105-108. <https://doi.org/10.53519/analesranf.2021.87.01.05>
- Heredia-Antúnez, A. P., Vanda-Cantón, B. y Santillán-Doherty, P. (2021). Retos de los Comités de Ética en Investigación en Animales. Experiencia de México. *Revista de Bioética y Derecho*, (51), 99-121. <https://doi.org/10.1344/rbd2021.51.32563>
- Hernández, G. Y., Rodríguez, G. A., Villafuerte, R. J. (2020). Influencia de los radicales libres en la génesis de la aterosclerosis. *Revista Finlay*, 10(2) ,170-178. <https://www.medigraphic.com/pdfs/finlay/fi-2020/fi2021.pdf>
- Herrmann, K. (2019). Refinement on the way towards replacement: Are we doing what we can? En K. Herrmann y K. Jayne (eds.), *Animal experimentation: Working towards a paradigm shift* (pp. 3-64.). Brill. https://doi.org/10.1163/9789004391192_002
- Lara O'Farril, L. C. (2021). Transgénesis: una aproximación a sus riesgos y beneficios. *Acta Médica del Centro*, 15(1), 141-155. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2709-79272021000100141&lng=es&tlng=es
- Lemus-Rodríguez, M. Z., Chong-Quesada, A. y Bosch-Escobar, J. (2017). Tableta masticable de lecitina de soya: de subproducto a producto farmacéutico. *MEDISAN*, 21(5), 556-563. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192017000500007&lng=es&tlng=es
- Leyton, F. (2018). Ciencia y ética: acerca de la situación de los animales no humanos en la investigación. En J. Gallego y M. J. Chible (eds.), *Derecho Animal: Teoría y práctica* (pp. 289-311). La Ley/Thomson Reuters. https://www.academia.edu/38162290/Ciencia_y_%C3%A9tica_acerca_de_la_situaci%C3%B3n_de_los_animales_no_humanos_en_la_investigaci%C3%B3n
- Martínez-Hidalgo, M. P. V. (2021). ¿Existen alternativas a los experimentos con animales? *Revista de Bioética y Derecho*, (51), 81-97. <https://doi.org/10.1344/rbd2021.51.30844>
- Mitchell, R. N. (2013). Lesión y muerte celulares, y adaptaciones. En V. Kumar, A. K. Abbas, J. C. Aster, J. Fariña González, M.ª J. Fernández-Aceñero, et al., (eds.), *Robbins. Patología humana* (9.ª ed., pp. 1-26). Elsevier España.
- Molina Cimadevila, M. J., Obaya Fernández, A., Ramos Blasco, J., Solís Soto, V., Gil del Real, S. y Muñoz Mediavilla, J. (2018). Por qué los animales importan: argumentario sobre la experimentación animal. *Animales de Laboratorio*, (79), 17-24. https://secal.es/wp-content/uploads/2018/12/Argumentario_revista_79.pdf
- Morales-Navarro, D. (2015). Bioética de la investigación preclínica en las ciencias biomédicas. *Revista Cubana de Estomatología*, 52(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072015000400007&lng=es&tlng=es
- Mukerjee, M. y Writer, S. (1997). Trends in Animal Research. Increased concern for animals, among scientists as well as the public, is changing the ways in which animals are used for research and safety testing. *Scientific American*, 70-77. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0297-86>
- Muñoz, P., Paredes, R., Erranz, B., Carvacho, I., Mezzano, M. y Herrera, E. A. (2020). Incorporación de estándares bioéticos para la generación de conocimiento científico de calidad en investigación en fauna silvestre. *Ciencia con conciencia. Gayana (Concepción)*, 84(1), 68-74. <https://doi.org/10.4067/S0717-65382020000100068>



- Nuffield Council on Bioethics. (2005). *The Ethics of Research Involving Animals*. Latimer Trend & Company Ltd.
- OMSA. (2023). Código Sanitario para los Animales Terrestres. Utilización de animales en la investigación y educación. En *Bienestar de los animales* (Vol. 1). Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahc/current/es_sommaire.htm
- Ortega-Suárez, B. L., Fernández-Bermúdez, A. y Cruz-Rodríguez, I. (2018). La relación ciencia, tecnología y sociedad en el pensamiento latinoamericano de las décadas del 70 al 90 del siglo XX. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*, (en línea). <https://www.eumed.net/rev/caribe/2018/09/ciencia-tecnologia-sociedad.html>
- Pérez, M. y Melgar, M. J. (2015). Agentes utilizados para inducir la muerte en los animales. Dislocación cervical. En María Julia Melgar Riol, Marcos Pérez López, Jesús Juan Cantalapiedra Álvarez y Mercedes Camiña García (coords.), *Bienestar animal. Métodos de eutanasia y aturdimiento* (pp. 62-64). Xunta de Galicia. Consellería do Medio Rural e do Mar. https://mediorural.xunta.gal/sites/default/files/publicacions/2019-10/METODOS_DE_EUTANASIA_1.pdf
- Pérez-López, M., González-Mateos A., Camiña-García, M. M. y Hernández Moreno, D. (2018). La ética en la experimentación animal: El principio de las tres erres. Monografías do Ibader - Serie Pecuaria 7. Ibader. Universidade de Santiago de Compostela. https://www.researchgate.net/publication/338950258_La_etica_en_la_experimentacion_animal_el_principio_de_las_tres_erres
- Pinzi, L. y Rastelli, G. (2019). Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4331. <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>
- Prieto-Martínez, F. D. y Medina-Franco, J. L. (2018). Diseño de fármacos asistido por computadora: cuando la informática, la química y el arte se encuentran. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(2), e201826. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=84838>
- Revilla-Flores, E. M. (2021). Especies reactivas de oxígeno, importancia e implicación patológica. *Revista Científica Ciencia Médica*, 24(2), 125-132. <https://doi.org/10.51581/rccm.v24i2.401>
- Rodríguez-Yunta, E. (2007). Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. *Acta bioethica*, 13(1), 25-40. <https://doi.org/10.4067/S1726-569X2007000100004>
- Rosado, J. (1996). La licitud ética de los experimentos en animales y la diferencia animal/hombre. *Cuadernos de Bioética*, 7(28), 443-453. <http://aebioetica.org/revistas/1996/4/28/443.pdf>
- Russell, W. M. S. y Burch, R. L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. Methuen.
- Salazar-Raymond, M. B., Icaza-Guevara, M. F. y Alejo-Machado, O. J. (2018). La importancia de la ética en la investigación. *Revista Universidad y Sociedad*, 10(1), 305-311. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202018000100305&lng=es&tlng=es
- Tadich, T. A., De Freslón, I., Gallo, C., Zúñiga, J. M., Vargas, R., Torres, C. G., Tadich, N., Gimpel, J., Martínez, C., Sandoval, D., Enríquez, R., Alfaro, J., Torres, P. H., Soderó, A. C., Jofily, P. y Silva-Jr, F. P. (2019). Key topics in molecular docking for drug design. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4574. <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>
- UEOD. (2010). Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo. Relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. Diario Oficial de la Unión Europea. L276, 20/octubre/2010. <https://www.boe.es/doue/2010/276/L00033-00079.pdf>



- Vargas-Aguilar, A. A. y Fuentes-Condori, R. (2021). Estudios in Silico, Simulando Vida en un Entorno Virtual. *Gaceta Médica Boliviana*, 44(2), 278-279.
- Vega-Ángeles, R. y Ortiz-Millán, G. (2021). Posturas y presuposiciones éticas en el debate por el uso de animales no humanos en investigación científica. *Revista de Bioética y Derecho*, (51), 21-42. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1886-58872021000100003&lng=es&tlng=es
- Zurita-Cruz, J. N., Barbosa-Cortés, L. y Villasís-Keever, M. Á. (2019). De la investigación a la práctica: fases clínicas para el desarrollo de fármacos. *Revista alergia México*, 66(2), 246-253. <https://doi.org/10.29262/ram.v66i2.625>