

Instituto Nacional
de Salud Pública

ESPM
ESCUELA DE SALUD
PÚBLICA DE MÉXICO

Maestría en Ciencias en Enfermedades Infecciosas

LA BIOÉTICA EN EL USO DE ANIMALES PARA INVESTIGACIÓN BÁSICA

Cultivo pluricelular innovador para la generación de un modelo tumoral de cáncer cervicouterino VHP16 positivo que reduzca el empleo de sujetos murinos

EQUIPO 4

**Hernández Torres Erika Itayetzi
Lucio García Cesar
Orea Zambrano Adriana
Santana Cedillo Fernando José
Young Peralta Yuliana**

UDE: Ética en la Investigación
Dra. Rosalinda Domínguez Esponda
Dra. Angelica Ángeles Llerenas

Lunes 14 de Junio de 2021

CONTENIDO

1

Cáncer cervicouterino como problema de salud pública

2

Pregunta de investigación

3

Objetivos

4

Diseño y metodología

5

Identificación de población y justificación

6

Uso de animales en investigación

7

Las 3 S's y Good science

8

Tres erres y Good sensibilities

9

Conclusiones

¿CUÁL ES EL ROL DE LA HUMANIDAD?

➤ Aceptar que la humanidad no es simplemente animal, sino que también es trascendente y por lo tanto tiene una responsabilidad única por el cuidado de otras especies.



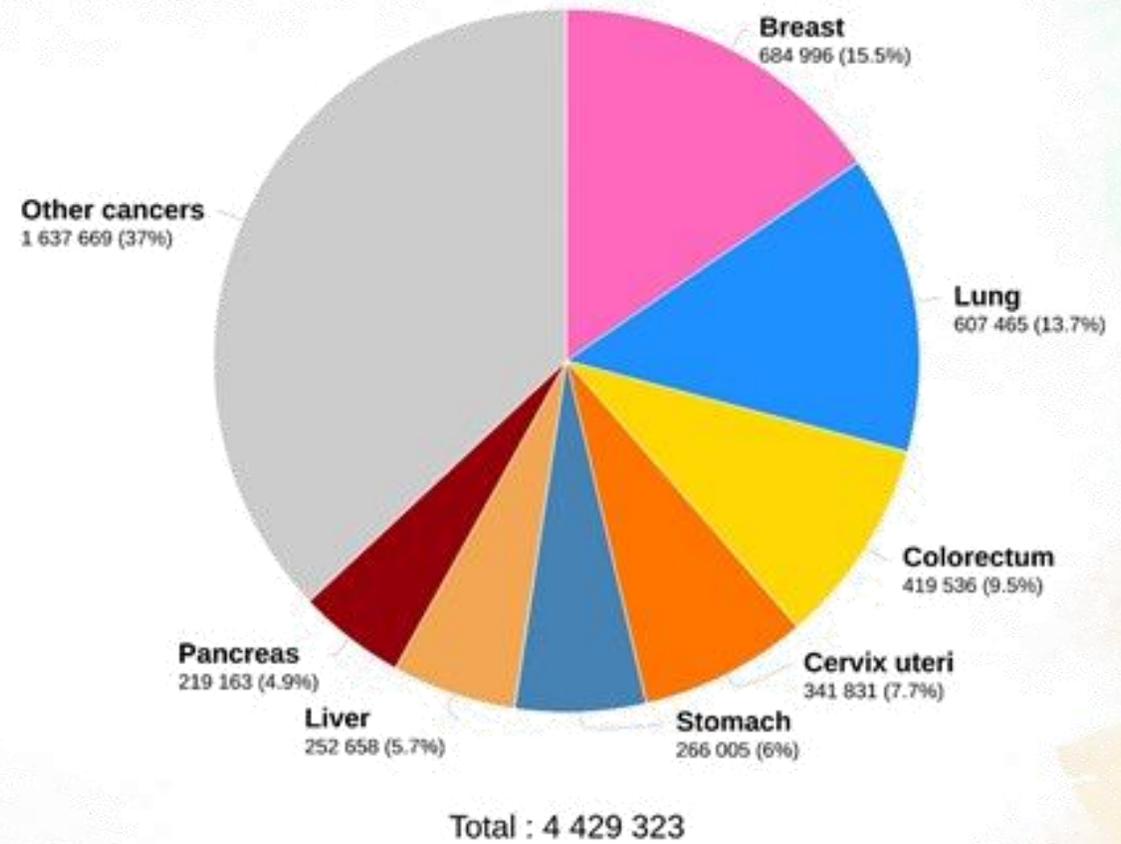
➤ La humanidad se ve a sí misma como la cima de las especies con libertad de usar su poder ilimitado sobre otras especies

CÁNCER CERVICOUTERINO COMO PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

▶ El cáncer cervicouterino (CACU) es la segunda causa de muerte entre las mujeres mexicanas.

▶ A nivel mundial el CACU afecta aproximadamente a 530.000 nuevos casos y 275.000 muertes anuales.

Estimated number of deaths in 2020, worldwide, females, all ages



CÁNCER CERVICOUTERINO COMO PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

- ▶ El factor de riesgo más importante del cáncer de cuello uterino es la infección por el Virus del Papiloma Humano (VPH). El VPH es un grupo de más de 150 virus relacionados. Algunos de ellos causan un tipo de crecimiento llamado papiloma que se conoce más comúnmente como verruga.
- ▶ El VPH puede infectar a las células de la superficie de la piel, y aquellas que revisten los genitales, el ano, la boca y la garganta.

CASI TODOS LOS CASOS DE
CÁNCER DE CUELLO UTERINO
SON CAUSADOS POR EL

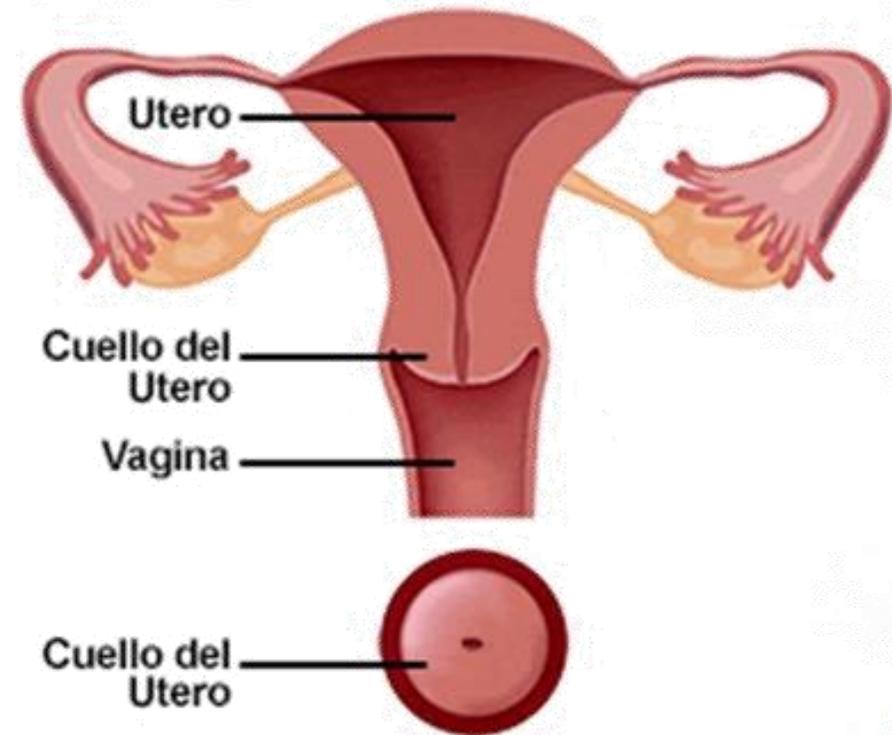


VPH

CÁNCER CERVICOUTERINO COMO PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA

▶ Actualmente, el cáncer es un problema de salud pública que afecta a países desarrollados, en los cuales el impacto potencial del cáncer en años futuros puede tener consecuencias devastadoras para los sistemas de salud.

Cáncer Cervicouterino



LA INVESTIGACIÓN BÁSICA PUEDE MEJORAR EL CONOCIMIENTO DEL CACU

▶ Desafortunadamente el tratamiento del CACU no está bien establecido. Existen múltiples ensayos terapéuticos como lo son la crioterapia, láser, electrocirugía y el uso de biomoléculas entre las que se destaca el interferón (INF).

▶ El INF es un agente biológico de reconocida actividad antiviral, anti-proliferativa e inmunomodulador y ha sido un arma importante en el tratamiento de muchas enfermedades virales, siendo una gran promesa para el tratamiento del CACU.

Principales tipos de interferones			
	IFN alfa humano	IFN beta humano	IFN gamma humano
Origen	Monocitos y linfocitos B	Fibroblastos, células epiteliales, macrófagos	Linfocitos T, células asesinas
Subtipos	>3	1	1
Peso molecular (KD)	19-37	23	20-5
Estructura (aminoácidos) ...	166	166	143
Glucosilación .	Sí en los naturales, no en los recombinantes	Sí	Sí
Estabilidad a pH 2	Sí	Sí	No
Cromosoma	9	9	12
Intrones	—	—	3
Principal estímulo inductor ..	Virus, antígenos	Virus, ARN de doble cadena, polirribonucleótidos	Antígeno mitógeno
Receptor	Tipo I	Tipo I	Tipo II
Propiedades biológicas	Antivíricas, antiproliferativas, inmunomoduladoras	Antivíricas, antiproliferativas, inmunomoduladoras	Inmunomoduladoras

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

- ▶ ¿Puede un cultivo pluricelular innovador ***reducir el empleo de sujetos murinos*** para la generación de un modelo tumoral de cáncer cervicouterino VHP16 positivo?

OBJETIVO GENERAL

- ▶ Desarrollo de un cultivo pluricelular innovador para la generación de un modelo tumoral de cáncer cervicouterino VHP16 positivo *in vitro* **que reduzca el empleo de sujetos murinos**

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Desarrollo de un cultivo pluricelular innovador
2. Generar un modelo tumoral de cáncer cervicouterino VHP16 positivo en el cultivo pluricelular
3. Reproducir un modelo tumoral de cáncer cervicouterino VHP16 positivo en sujetos murinos
4. Evaluar la efectividad de los modelos *in vivo* vs *in vitro* para la generación de tumores de cáncer cervicouterino VPH16 positivo
5. **Reducir el empleo de sujetos murinos para la generación de un modelo tumoral**

DISEÑO Y METODOLOGÍA

▷ **Tipo y diseño general de estudio:**

- ▷ Biomédico, datos primarios, experimental y analítico inductivo

▷ **Población de estudio y tamaño de muestra:**

- ▷ Cultivo pluricelular y sujetos murinos (BALB/c)
- ▷ 3 sujetos murinos y cultivo pluricelular por triplicado

▷ **Presentar ante el comité de ética, bioseguridad e investigación del INSP**

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Cultivo pluricelular BMK
16/MYC

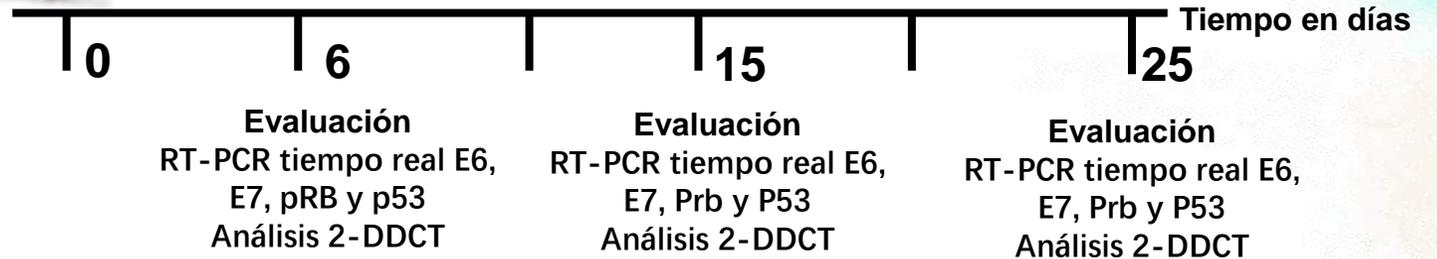
Expresión génica= RT-PCR tiempo
real E6, E7, Prb y P53



Ratonas BALB/c
6 semanas

Administración
vía subcutánea y
soluble al medio de
cultivo

Crecimiento tumoral



Grupos experimentales

n=3

- Cultivo pluricelular por triplicado
- Sujetos murinos

CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD

CONSIDERACIONES ÉTICAS

- ✔ Manual de procedimientos para el manejo de sustancias CRETI y RPBI.
- ✔ CITI program (manejo de animales de laboratorio).
- ✔ De acuerdo a las condiciones del bioterio del INSP bajo asesoría del Médico Veterinario Zootecnista responsable del bioterio.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

- ✔ Será sometido al comité de ética, bioseguridad e investigación del INSP para su aprobación.
- ✔ Se trabajará con un cultivo pluricelular.
- ✔ Se trabajará con ratones Balb/c normales (libres de patógenos).

IDENTIFICACIÓN DE POBLACIÓN Y JUSTIFICACIÓN

- ▶ Se ha demostrado que ratones hembra BALB/c desarrollan eficazmente tumores cervicales inducidos por VPH16, y por lo tanto ayudan mimetizar cáncer cervicouterino in vivo (1).

USO DE ANIMALES EN INVESTIGACIÓN

▷ Ventajas:

- ▷ Son sujetos que permiten la manipulación de acuerdo a los intereses del investigador y son internacionalmente aceptados por los comités de bioética.
- ▷ Permiten un acercamiento al entendimiento de la fisiología humana.

▷ Desventajas:

- ▷ Presentan limitaciones en la similitud de la biología entre humanos y animales.
- ▷ Se transgreden los derechos de los animales.
- ▷ Presenta limitaciones en la extrapolación de resultados hacia los humanos.

▷ Código de Nuremberg – Declaración de Helsinki

- ▷ “La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.”

LOS ANIMALES SON UN GRUPO VULNERABLE

- ▶ No se toman en cuenta sus intereses
- ▶ No se le pide su consentimiento ni pueden expresar su renuencia a participar
- ▶ La mayoría de las veces tienen que morir al final de experimento

LAS 3 S ' S

▷ Carol Newton (1975)

▷ Good science

▷ Adecuado método científico

▷ Integridad

▷ Cumplimiento de la normatividad

▷ Good sense

▷ Reemplazar

▷ Reducir

▷ Refinar

▷ Good sensibilities

▷ Teorías éticas

▷ Bienestar animal

▷ Responsabilidad

GOOD SCIENCE. ADECUADO MÉTODO CIENTÍFICO

- ▶ 89% de investigaciones con animales no pueden ser replicadas debido a diseños de estudios deficientes (Graham y Prescott, European J Pharm, 2015)
- ▶ Knight 2011 – costos y beneficios de los experimentos con animales



EXTRAPOLACIÓN DE RESULTADOS A LA FISIOLOGÍA HUMANA

- ▶ Hacer referencia a las limitantes para extrapolar los resultados de los experimentos en animales
- ▶ Desperdicio de vidas animales en investigaciones no concluyentes

GOOD SCIENCE. INTEGRIDAD

- ▶ Investigaciones sin innovación
- ▶ Aumentar el número de publicaciones a costa del sufrimiento y vida de animales
- ▶ Cumplir objetivos personales

GOOD SCIENCE. APEGO A LA NORMATIVIDAD

- ▶ Ley general de salud
- ▶ Ley de protección a los animales
- ▶ Norma oficial mexicana para producción, cuidado y uso de animales (NOM-062-ZOO-1999)
- ▶ Comités de bioética
 - ▶ Principios de bienestar animal, mínimo daño, distribución justa y no maleficencia.

Hackam D. G. (2007). Translating animal research into clinical benefit. *BMJ (Clinical research ed.)*, 334(7586), 163–164. <https://doi.org/10.1136/bmj.39104.362951.80>

Escoba, Donald M (2011). Bienestar animal: conceptos, métodos de estudio e indicadores. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24 (3), 306-321. [Fecha de Consulta 12 de Junio de 2021]. ISSN: 0120-0690. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295022382010>

TRES ERRES

▶ Reemplazar

- ▶ Modelos alternativos (células troncales, cultivos celulares, organoides (en chip 3D))
- ▶ Las alternativas funcionan (Superior 45.5%, equivalentes 45.5%, inferior 8.9%)
- ▶ Ventajas: mayor repetición, cumplimiento legislación, ética

▶ Reducir

- ▶ Ley Federal de Sanidad Animal Art. 20, párrafo II – “...reducir al mínimo indispensable el número de animales vivos en experimentación”
- ▶ Menos es más, mejor calidad.

▶ Refinar

- ▶ Menos invasivo posible, uso tranquilizantes y anestésicos, analgésicos
- ▶ Evitar estrés y dolor, antes durante y después de procedimiento experimental
- ▶ Escalas de evaluación del dolor en conejos y ratones
- ▶ Muerte digna – pérdida de consciencia – paro cardio respiratorio

Hackam D. G. (2007). Translating animal research into clinical benefit. *BMJ (Clinical research ed.)*, 334(7586), 163–164. <https://doi.org/10.1136/bmj.39104.362951.80>

Mrad de Osorio, Afife (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*. 1 (1). 163-183ISSN: 1900-6896. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189217283010>

GOOD SENSIBILITIES

▷ Teorías éticas

- ▷ Imperativo moral – Fritz Jahr / Jeremy Bentham – éticas zoocéntricas - discriminación / especismo -
- ▷ Los animales no deben considerarse sujetos o medios – “sujetos experimentales o sujetos de estudio”
- ▷ Justicia distributiva, mínimo daño, justicia restitutiva

▷ Bienestar animal

- ▷ Condiciones ideales en bioterios, enriquecimiento ambiental

▷ Responsabilidad

- ▷ Evitar distanciamiento psicológico, sin banalización del mal.
- ▷ Responsabilizar y justificar los actos, evitar lo mayor posible.

CONCLUSIONES

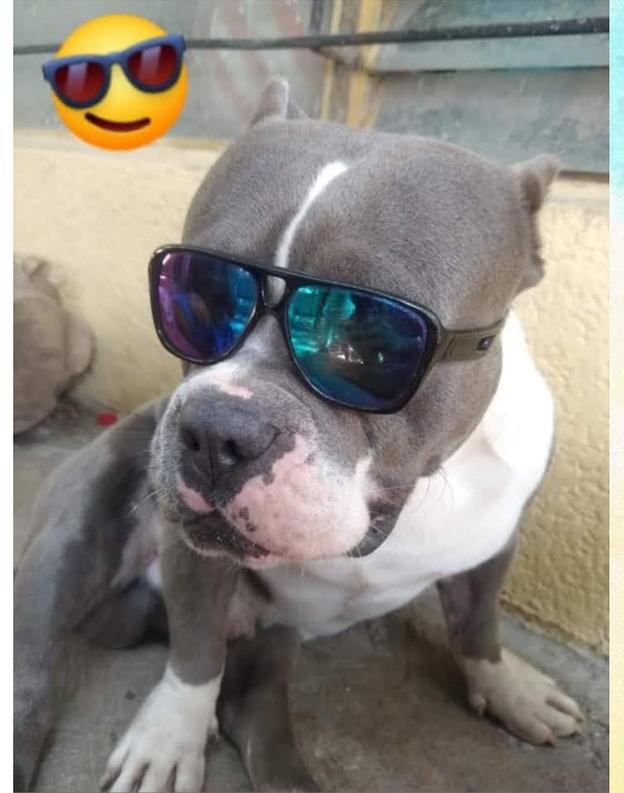
- ▶ El empleo de animales para investigación básica se ha justificado dada la similitud que existe en la anatomía y fisiología con el ser humano.
- ▶ Por lo tanto, deberían ser aplicados los mismos derechos del humano a los animales.
- ▶ Que sean considerados como un grupo vulnerable.
- ▶ Emplear las 3 R's en la investigación.
- ▶ Limitante respecto a la extrapolación de resultados en animales a la fisiología humana
- ▶ Promover el uso de las alternativas para la experimentación animal disponibles actualmente (organoides, organoides impresos en 3D, chips, líneas celulares innovadoras).
- ▶ Fomentar el desarrollo de nuevas alternativas al uso experimental con animales en campos poco explorados (desarrollo de modelos tumorales en cultivos pluricelulares)

➤ Aceptar que la humanidad no es simplemente animal, sino que también es trascendente y por lo tanto tiene una responsabilidad única por el cuidado de otras especies.



➤ La humanidad se ve a sí misma como la cima de las especies con libertad de usar su poder ilimitado sobre otras especies

Gracias



REFERENCIAS

- I. Ley de protección a los animales (reformado G.O CDMX 27 de Junio del 2017)
- II. Norma Oficial Mexicana para la producción, cuidado y uso de los animales e laboratorio (NOM-062-ZOO-1999)
- III. YAACOV PEÑA, FERNANDO (2015). INTRODUCCIÓN A LA ÉTICA EN INVESTIGACIÓN: CONCEPTOS BÁSICOS Y REVISIÓN DE LA LITERATURA. Revista Med, 23 (2), 78-86. ISSN: 0121-5256. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91044134009>
- IV. Baumans, V. El uso de animales en la investigación experimental: ¿un dilema ético ?. Gene Ther 11, S64-S66 (2004). <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3302371>
- V. Téllez Ballesteros, Elizabeth Eugenia, & Vanda Cantón, Beatriz. (2021). Las tres Ces como ampliación de las tres Erres para una praxis en la investigación biomédica. Revista de Bioética y Derecho, (51), 123-139. Epub 29 de marzo de 2021. Recuperado en 13 de junio de 2021, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1886-58872021000100008&lng=es&tlng=pt.
- VI. Graham, M. L., & Prescott, M. J. (2015). The multifactorial role of the 3Rs in shifting the harm-benefit analysis in animal models of disease. European journal of pharmacology, 759, 19–29. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.03.040>
- VII. Hackam D. G. (2007). Translating animal research into clinical benefit. BMJ (Clinical research ed.), 334(7586), 163–164. <https://doi.org/10.1136/bmj.39104.362951.80>
- VIII. Escoba, Donald M (2011). Bienestar animal: conceptos, métodos de estudio e indicadores. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 24 (3), 306-321. ISSN: 0120-0690. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295022382010>
- IX. Mrad de Osorio, Afife (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, 1 (1), 163-183ISSN: 1900-6896. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=189217283010>
- X. Fernando J. Benavides & Fernando J. Benavides. (2003). Manual de genética de roedores de laboratorio. Madrad, España : Universidad de Alcalá de Henares & SECAL
- XI. Wang, J. W., Jiang, R., Peng, S., Chang, Y. N., Hung, C. F., & Roden, R. B. (2015). Immunologic Control of Mus musculus Papillomavirus Type 1. PLoS pathogens, 11(10), e1005243. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005243>











