

Las 3Rs: Una audaz estrategia para responder preguntas de ciencia

ABRIL ALONDRA BARRIENTOS BONILLA, JUAN FRANCISCO RODRÍGUEZ-LANDA, EDUARDO RIVADENEYRA DOMÍNGUEZ,
MARCOS FERNANDO OCAÑA SÁNCHEZ Y DANIEL HERNÁNDEZ BALTAZAR

El refinamiento no sólo incluye lo relacionado directamente con el bienestar y el cuidado de los animales, sino también cualquier acción que impacte en el diseño de nuevas técnicas, pruebas o métodos de evaluación de los efectos ejercidos por las manipulaciones experimentales a las que sea sometido el animal

En la investigación científica, una actividad organizada que busca encontrar respuestas confiables, es necesario trabajar en equipo para favorecer el avance de las humanidades, las ciencias médico-biológicas y la tecnología. Uno de los aportes sustanciales que vinculan éstas tres áreas fue logrado por el zoólogo William M. S. Russell y el microbiólogo, Rex L. Burch, quienes implementaron los Principios de las 3Rs (*Refinar, Reducir, Reemplazar*), como parte de una estrategia para la incorporación responsable de seres vivos en la investigación.

Si bien el incremento de nuevos modelos animales de experimentación, asociado al auge del uso de herramientas bioinformáticas para el modelado de sistemas biológicos, ha generado necesarias actualizaciones en términos de su aplicabilidad, por lo tanto la meta de cada principio de Russell y Burch permanece vigente. *Refinar* contempla la optimización de procesos experimentales que disminuya cualquier tipo de dolor o sufrimiento, mientras que el principio de *Reducir* implica minimizar el número de animales, o incluso se prevé la opción de *Reemplazar*, principio con el que se procura la sustitución de animales por material no sensible. Sin duda, todo con la finalidad de garantizar el bienestar animal sin comprometer la calidad de las investigaciones.

El pensamiento de Russell y Burch continúa motivando, por consiguiente, la reflexión de tres aspectos: El respeto por la vida, la necesidad del uso de animales en la investigación, y la posibilidad de

incluir nuevas formas de responder preguntas en el campo de las ciencias biológicas y de la salud.

El respeto por la vida

El refinamiento no sólo incluye lo relacionado directamente con el bienestar y el cuidado de los animales, sino también cualquier acción que impacte en el diseño de nuevas técnicas, pruebas o métodos de evaluación de los efectos ejercidos por las manipulaciones experimentales a las que sea sometido el animal [1]. Parte de la estrategia para lograr esto es la incorporación de estudios *in silico*, así como la mejora en los diseños experimentales, el uso eficaz de los análisis estadísticos y, de forma destacada, la reflexión sobre la relevancia científica de los estudios en animales.

Por ejemplo, durante muchos años se aplicaron choques eléctricos a las patas de roedores para inducir estrés que derivara en ansiedad y/o depresión. Esta técnica cuando no era controlada podía intensificar los síntomas que no estaban directamente relacionados con las patologías estudiadas y producir dolor significativo. Para evitar estos inconvenientes se han refinado los métodos de inducción de estrés controlando la intensidad y duración de los choques, para entender los mecanismos involucrados en el desarrollo de la patología, reduciendo el sufrimiento innecesario del animal.

Otro ejemplo, tiene que ver con la anestesia de mamíferos. Antes se utilizaba el cloroformo como



anestésico, el cual es altamente tóxico y produce irritación en la piel y las mucosas; con el tiempo, fue sustituido por otros líquidos volátiles como el éter, sin embargo, aunque con menos efectos tóxicos es irritante. Actualmente, se emplea el isoflurano, que es altamente seguro, con una muy baja toxicidad, de acción rápida y pronta recuperación.

Por lo tanto, refinar, asegura el bienestar de los animales al reducir el dolor, sufrimiento o daño prolongado, lo cual contribuye al avance de una ciencia con alto sentido bioético.

Sólo los necesarios

El principio de Reducir implica minimizar el número de animales contemplados en la investigación [2]. La decisión de reducir depende de una hipótesis bien definida, y objetivos claros, así como de la selección precisa de controles y variables [3]. Revisemos un par de casos de investigación.

Caso 1. La fibrosis hepática humana, entendida como una falla en el proceso de cicatrización del hígado, puede ser inducida en roedores mediante sustancias hepatotóxicas como el tetracloruro de carbono (CCl_4), por lo que se emplea como modelo en la investigación biomédica. No obstante existen distintos tipos de este modelo, los cuales se caracterizan por el uso de múltiples dosis, así como la frecuencia y duración del tratamiento; condiciones

que incrementan el número de animales necesarios para realizar los estudios.

Caso 2. En diversas especies, contemplar las diferencias metabólicas debidas al sexo son cruciales para la correcta interpretación de resultados. Por ejemplo, se ha identificado que, en la generación de la enfermedad hepática no alcohólica en roedores, los machos son más susceptibles que las hembras. Por lo tanto, cuando se diseña un experimento en el que se evalúan los efectos de un tratamiento contra esa patología, la inclusión de machos garantizará la confiabilidad de los resultados y reducirá la cantidad de animales de experimentación.

El principio de reducción debe entenderse, entonces, como un enfoque integral que busca disminuir el número de animales y también mejorar la calidad de los datos.

“Algo” en lugar de alguien

El principio de *reemplazar*, apunta a una interesante reflexión: la sustitución puede ser relativa o absoluta. Es relativa cuando los sujetos experimentales sólo son necesarios en alguna etapa del experimento, por ejemplo, cuando se requiere probar una vacuna que ha sido producida *in vitro*; mientras que en el reemplazo absoluto los animales no son necesarios en ninguna fase de la evaluación [4].

Explorando con conciencia. Ilustración en tinta sobre papel cortesía de Daniel Hernández Baltazar.

De acuerdo con la Directiva 2010/63/EU y las interpretaciones propuestas por el Centro Nacional del Reino Unido para la estrategia de las 3Rs [5], el reemplazo representa una práctica conveniente para el cese gradual del uso de animales en investigación científica, pero su ejecución es difícil por dos razones: 1) la desigualdad de recursos que enfrentan los investigadores a nivel mundial, y 2) las múltiples preguntas de investigación que implican la prueba de hipótesis en animales. Esto es clave en áreas como las neurociencias, toxicología, hematología, inmunología y bioquímica metabólica, en las que los modelos animales son indispensables para evaluar los efectos, tóxicos o terapéuticos, en diversas patologías, que difícilmente se recrean con las nuevas tecnologías *in silico*. Por lo tanto, la sustitución parcial o completa de animales podría tener un impacto negativo en el desarrollo de la investigación clínica.

Si bien este tema estimula un debate complejo, en la práctica requerimos ser proactivos. Una posibilidad es el establecimiento de colaboraciones internacionales multidisciplinarias que disminuyan la brecha tecnológica, como las que han favorecido el desarrollo de la ingeniería de tejidos animales y vegetales de importancia biomédica [6]. Aunado a esto, se debe promover el trabajo que vincule a expertos en modelos animales de experimentación con especialistas en bioinformática o en inteligencia artificial que procure la optimización de recursos vivos en la investigación científica de calidad.

PARA CONOCER MÁS

- [1] Marañón-Murga E, Linares-Márquez P, Rodríguez-Landa JF. 2023. Pensamiento filosófico y bienestar animal en la experimentación científica: análisis retrospectivo frente a las necesidades éticas por la contingencia sanitaria por COVID-19. *Bios Papers* 2(1), e4319. <https://doi.org/10.18270/bp.v2i1.4319>
- [2] Martínez-López S, Angel-Gomis E, Sánchez-Ardid E, Pastor-Campos A, Picó J, Gómez-Hurtado I. 2023. The 3Rs in experimental liver disease. *Animals*, 13(14), 2357. <https://doi.org/10.3390/ani13142357>

¿Qué podemos hacer para que los principios de las 3Rs sean una práctica cotidiana?

1. Priorizar el bienestar animal y el respeto por todas las formas de vida.
2. Mejorar los métodos de reproducción, crianza, mantenimiento y manejo de animales.
3. Optimizar los métodos y técnicas experimentales.
4. Reducir el número de animales usados para la investigación.
5. Innovar constantemente las estrategias para responder preguntas científicas.
6. Reflexionar si la relevancia científica justifica la inclusión de animales de experimentación.

Homberg JR, Adan RAH, Alenina N, Asiminas A, Bader M, Beckers T, et al. 2021. The continued need for animals to advance brain research. *Neuron*, 109(15), 2374–2379. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.07.015>

[3] Lauwereyns J, Bajramovic J, Bert B, Camenzind S, De Kock J, Elezovi A, et al. 2024. Toward a common interpretation of the 3Rs principles in animal research. *Lab animal*, 53(12), 347–350. <https://doi.org/10.1038/s41684-024-01476-2>

[4] Tannenbaum J, Bennett BT. 2015. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *JAALAS*, 54(2), 120–132. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4382615/>

[5] Barrientos Bonilla AA, Zavala Flores LM, Hernández Baltazar D. 2023. Modelos biológicos en investigación biomédica: características e implicaciones. *Contactos, Revista de educación en ciencias e ingeniería*, (128), 43-51. <https://contactos.izt.uam.mx/index.php/contactos/article/view/272>

DE LOS AUTORES

Dra. Abril Alondra Barrientos-Bonilla.

CoSustenta, Universidad Veracruzana.
abribarrientos@uv.mx

Dr. Juan Francisco Rodríguez-Landa.

Instituto de Neurootología, Universidad Veracruzana.
juarodriguez@uv.mx

Dr. Eduardo Rivadeneyra-Domínguez.

Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Universidad Veracruzana.
edrivadeneyra@uv.mx

Dr. Marcos Fernando Ocaña-Sánchez.

Facultad de Química Farmacéutica Biológica. Universidad Veracruzana.
maocana@uv.mx

Dr. Daniel Hernández-Baltazar.

Investigadores por México SECIHTI / Instituto de Neurootología, Universidad Veracruzana.
danielhernandez@uv.mx