

Investigación preclínica en las ciencias biomédicas

Pre-clinical biomedical research

Denia Morales Navarro

Facultad de Estomatología. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Cuba.

RESUMEN

Introducción: la perspectiva histórica demuestra lo eficaz y esencial que ha sido la utilización de animales como sujetos de prueba. Se ha logrado salvar vidas y responder a diferentes preguntas biomédicas, a partir de esta práctica.

Objetivo: realizar una revisión bibliográfica sobre la investigación preclínica en las ciencias biomédicas.

Métodos: se realizó una revisión sobre la investigación preclínica en las ciencias biomédicas en Internet. La búsqueda abarcó artículos publicados fundamentalmente en los últimos 5 años. Se evaluaron revistas internacionales de impacto de la *Web of Sciences* relacionadas con el tema (32 revistas) y 2 cubanas. Se consultaron las bases de datos de sistemas referativos, como MEDLINE, PubMed y SciELO con la utilización de descriptores como "*animal research*", "*preclinical investigation*", "*biomodels*", "*laboratory animals*", "*translational medicine*" y sus equivalentes en español. Se incluyeron artículos en idioma inglés, portugués y español. Se obtuvieron 136 artículos, se circunscribió el estudio a 53 que enfocaron esta temática de manera más integral. Se revisó 1 libro.

Análisis e integración de la información: al analizar el comportamiento de los artículos sobre la temática de estudio respecto a su representatividad en las diferentes revistas científicas donde fueron publicados, 9,4 % de ellos correspondieron a la revista *Journal of clinical periodontology* e igual porcentaje a la *PloS biology*. Los restantes artículos estuvieron distribuidos de manera uniforme entre las otras revistas. La mayoría de las investigaciones sugieren que el empleo de biomodelos constituye una forma eficiente de desarrollar investigaciones, pero que estas deben estar bien diseñadas, pues frecuentemente se introducen sesgos en la validez interna y externa de la investigación, que conllevan a errores en la publicación científica.

Conclusiones: el desconocimiento de las características inherentes a los biomodelos, de aspectos propios de la investigación preclínica, los concernientes al diseño metodológico y el mismo desarrollo de la investigación pueden introducir

errores en el análisis, y publicación de los resultados; consecuentemente, se afecta la calidad de la investigación, y se contribuye a la frecuente falta de estudios animales confiables.

Palabras clave: investigación preclínica, experimentación animal, biomodelos, diseño de la investigación, error de publicación.

ABSTRACT

Introduction: a historical analysis would reveal that the use of animals as test subjects has been both effective and essential. Such a practice has served both to save lives and to answer a variety of biomedical questions.

Objective: carry out a bibliographic review about preclinical biomedical research.

Methods: bibliographic review was conducted about preclinical biomedical research on the Internet. Most of the papers included in the search have been published in the last five years. An evaluation was performed of international high impact journals from the Web of Sciences dealing with the subject (32 journals), as well as two Cuban journals. Databases from reference systems such as MEDLINE, PubMed and SciELO were consulted with the aid of search terms like " animal research", "preclinical investigation", "biomodels", "laboratory animals", "translational medicine" and their Spanish counterparts. The papers included were in English, Portuguese or Spanish. Of the 136 papers obtained, the reviewers selected the 53 which approached the study subject in a more comprehensive manner. One book was also reviewed.

Data analysis and integration: an analysis of the representativeness of papers in the scientific journals where they were published showed that 9.4 % corresponded to the Journal of Clinical Periodontology, and the same percentage to PloS Biology. The remaining papers were evenly distributed among the other journals. Most studies suggest that biomodels are an effective tool in scientific research, but they should be correctly designed, for it is common to find bias in the internal and external validity of the research, leading to errors in scientific publications.

Conclusions: lack of knowledge about characteristics inherent to biomodels, preclinical research, methodological design and the very development of the research may lead to errors in the analysis and publication of results, affecting the quality of the research and contributing to the frequent scarcity of reliable animal studies.

Key words: preclinical research, animal experimentation, biomodels, research design, publication error.

INTRODUCCIÓN

El uso de animales ha permitido conocer más sobre la vida en general y sobre los seres humanos en particular, desde fechas antiguas.¹ La perspectiva histórica demuestra cuán eficaz y esencial ha sido la utilización de los animales como sujetos de prueba. Se ha logrado salvar vidas y responder a diferentes preguntas biomédicas, a partir de esta práctica.²

El empleo de animales en investigaciones ha sido relevante para los descubrimientos médicos. Ha contribuido a que más de 70 científicos de todo el mundo hayan recibido el Premio Nobel en Medicina y Fisiología, desde 1901 hasta la fecha.³

Minimizar el sesgo en el diseño y realización de la investigación preclínica ha de promover estudios más sólidos desde el punto de vista metodológico, y resultados que proporcionen una mejor protección de los seres humanos.⁴

Desde hace algún tiempo la investigación preclínica aplicada a la implantología dental ha sido revitalizada en Cuba, a partir de la participación de la Facultad de Estomatología de la Universidad de Ciencias Médicas de La Habana en un proyecto de investigación conjunto Cuba-Italia. Teniendo en cuenta la escasa o nula formación investigativa de nuestro perfil estomatológico en esta rama del saber, nos planteamos como objetivo realizar una revisión bibliográfica acerca de la investigación preclínica en las ciencias biomédicas.

MÉTODOS

Se realizó un estudio de revisión bibliográfica sobre la investigación preclínica en las ciencias biomédicas en Internet. La búsqueda se orientó a artículos publicados fundamentalmente en los últimos 5 años. Como resultado de esta se obtuvieron 136 artículos que se tamizaron con el propósito de conservar solo los que describieran más integralmente el tema. De esta manera el estudio se circunscribió a 53 artículos (51 con menos de 5 años de publicación y 2 con 7 años). Se revisó un libro.

Se consultaron las bases de datos de sistemas referativos MEDLINE, PubMed y SciELO con la utilización de los descriptores "animal research" "preclinical investigation", "biomodels", "laboratory animals", "translational medicine" y sus equivalentes en español. Se incluyeron artículos en idiomas inglés, portugués y español. Se revisaron revistas con impacto internacional de la *Web of Sciences* relacionadas con este tema (32 revistas): *BMC Medical Ethics*, *Acta cirúrgica brasileira*, *Acta Bioethica*, *PLoS Biology*, *Systics Reviews*, *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *Progress in Pediatric Cardiology*, *Endoscopy*, *PLoS Medicine*, *Laboratory animals*, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *Theoretical biology & medical modelling*, *Alternatives to laboratory animals: ATLA*, *Chemico-biological interactions*, *Pharmacology & therapeutics*, *Journal of pharmacological and toxicological methods*, *Biochemical pharmacology*, *Behavioural Brain Research*, *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, *Drug discoveries & therapeutics*, *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, *ILAR journal*, *International journal of toxicology*, *Acta physiologica hungarica*, *American journal of translational research*, *Philosophy, ethics, and humanities in Medicine*, *Nature*, *Critical Care Medicine*, *PLoS One*, *Scandinavian Journal of Pain*, *International Journal of Medical Sciences* y *Journal of clinical periodontology*. Se analizaron 2 publicaciones cubanas (*Revista de Humanidades Médicas* y la *Revista Cubana de Plantas Medicinales*).

Los tópicos consultados en la revisión estuvieron referidos a la investigación preclínica en las ciencias biomédicas: su utilidad, ventajas, biomodelos, fallos en el proceso investigativo y errores metodológicos frecuentes en publicaciones sobre estudios preclínicos, en la rama de la implantología dental.

Para el procesamiento de la información se elaboró un cuaderno para la recolección de datos, a través de Microsoft Office Excel 2010, donde se confeccionó un documento que recogió todas las revistas analizadas y la cantidad de artículos relacionados con esta temática hallados en ellas.

ANÁLISIS E INTEGRACIÓN DE LA INFORMACIÓN

UTILIDAD DE LOS ANIMALES EN LA INVESTIGACIÓN

Según *Briel*,⁵ la investigación preclínica tiene como objetivo principal mejorar nuestra comprensión acerca de los procesos fisiológicos y patológicos. Sin embargo, muchos estudios preclínicos, experimentos con animales *in vivo* en particular, también pueden influir en la atención clínica de los pacientes a través de los siguientes mecanismos: a) brindar información para el diseño de los estudios clínicos, b) determinar directrices clínicas, considerando la evidencia preclínica cuando la evidencia clínica falta, y c) orientación directa de la práctica clínica.

Para *Concepción*⁶ las ciencias biomédicas y otras afines avanzan rápidamente cuando se utilizan modelos animales adecuados, que posibiliten la evaluación de nuevos medicamentos para el tratamiento y prevención de diferentes enfermedades. También, es éticamente reconocido que no se deben emplear nuevos medicamentos, sustancias, ni dispositivos en seres humanos, a menos que las pruebas previamente efectuadas en animales permitan hacer una suposición razonable de su inocuidad, aspecto en que coincide *Vandamme*.⁷

Un paso crítico para salvar la distancia entre el laboratorio y la clínica, es el estudio *in vivo* en animales que demuestren el rendimiento y la seguridad del dispositivo de investigación.⁸

Los modelos animales, según *Parra-Blanco*⁹ son simuladores fácilmente disponibles en el aprendizaje de procedimientos médicos. La formación de habilidades en estos modelos ha sido recomendada en varias técnicas complejas. La evidencia disponible nos sugiere que la práctica en modelos animales tiene una influencia favorable en la curva de aprendizaje y que facilita la adquisición de habilidades en técnicas complejas.

Ventajas de la investigación preclínica

Una de las ventajas de los estudios en animales es la capacidad de investigar un grupo relativamente homogéneo de animales en lugar de un grupo heterogéneo de pacientes. Además, los estudios en animales ofrecen una gama más amplia de posibilidades para examinar la toxicidad de las intervenciones o la patología en estudio, y mecanismos de la enfermedad. La mayoría de los ensayos clínicos solo se centran en la eficacia clínica.¹⁰

Errores relacionados con la investigación preclínica

*Hooijmans*¹¹ considera que existen varios desafíos para la traslación exitosa de los resultados de la investigación con animales a los seres humanos en un entorno clínico:

1. Diferencias biológicas entre las cepas y especies.
2. Mala calidad metodológica de los experimentos con animales.
3. Diferencias en el diseño de estudios experimentales en animales y ensayos clínicos.

4. Notificación insuficiente de los detalles de los animales, métodos y materiales.
5. Sesgo de publicación.

Por su parte *Henderson*¹² cree que en ocasiones surgen dificultades para replicar estudios preclínicos, sesgo de publicación, y prácticas metodológicas que comprometen la validez de la investigación.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

*Leenaars*¹³ y *Hooijmans*¹⁴ consideran que antes de la creación de un nuevo experimento con animales, el análisis exhaustivo de los experimentos realizados anteriormente es de suma importancia tanto desde el punto de vista científico como del ético. A través de este análisis, la máxima cantidad de información disponible se puede derivar de trabajos anteriores sobre el tema de investigación y, en consecuencia, se puede prevenir la duplicación innecesaria de experimentos. Por otra parte, las nuevas ideas que puedan surgir de la agregación de los trabajos anteriores se pueden utilizar para mejorar el diseño de futuros experimentos con animales.

Mientras *van der Worp*¹⁵ considera que la revisión sistemática y los metaanálisis de estudios con animales pueden ayudar a definir las estrategias de tratamiento más prometedoras para los ensayos clínicos.

BIOMODELOS

*Greek*¹⁶ expone que los modelos son importantes para la actividad científica y pueden tomar la forma de modelos abstractos, computacionales, matemáticos, físicos, tales como maquetas. También los modelos se pueden dividir según su función si se utilizan para replicar una parte del tema que se está modelando o para probar las hipótesis o interpretar aspectos de la teoría.

Los modelos animales son físicos y pueden ser clasificados sobre la base de diversas características y usos. Por ejemplo, se pueden distinguir por la distancia filogenética de las especies, que constituyen modelos de los seres humanos. Los de tipo animal pueden ser clasificados basándose, además, en la fidelidad —lo bien que el modelo se asemeja a los humanos—, así como sobre la base de validez —que tan bien le parece lo que está midiendo—. Los modelos animales pueden ser considerados adicionalmente basados en la fiabilidad —la precisión y exactitud de la medición—.

Para *Varga*¹⁷ el uso de animales para modelar los seres humanos en la investigación biomédica se basa en la idea de que los procesos básicos son bastante similares en todas las especies para permitir la extrapolación.

*Wittenburg*¹⁸ defiende que el componente más integral del diseño de un estudio preclínico que pueda tener traducción en la clínica es la selección de modelos, que generalmente se orienta atendiendo a los objetivos y metas del estudio.

Para *Milani-Nejad*¹⁹ la elección del modelo depende de varios factores:

1. ¿Qué procesos se están investigando?
2. ¿Qué tan avanzado está el estudio? (estudio preliminar vs preclínico).

*Kumar*²⁰ expone que tres tipos de parámetros de validez son aplicados a modelos animales: validez aparente, validez del constructo y validez predictiva. *McGonigle*²¹ explica que la validez aparente se refiere a manifestaciones de síntomas similares a la condición clínica, la validez de constructo a la biología similar a los humanos y la predictiva, a la respuesta similar a la clínica.

Un modelo animal ideal debe poseer las características siguientes:

- a) Base genética similar,
- b) anatomía y fisiología similares,
- c) respuesta patológica similar, y
- d) parámetros fenotípicos similares.

*Stewart*²² enfatiza en la importancia de utilizar cepas animales homogéneas y puras genéticamente, para controlar el medio ambiente y minimizar fenotípica y genéticamente los errores que pueden enmascarar cambios significativos o emitir un falso positivo.

*Monteiro*²³ considera que un modelo animal debe permitir el estudio de los fenómenos biológicos o el comportamiento de los animales, la investigar un proceso patológico espontáneo o inducido y asemejar al fenómeno enfermedad de los seres humanos.

La elección de los animales de experimentación se determina por factores como el coste, la viabilidad técnica del proceso, los principios de infraestructura y científicos disponibles, entre otros. La mayor parte de la investigación en el área básica se lleva a cabo en animales pequeños, como ratones, ratas, *hamsters*, los cuales comprenden casi 90 % de todas las especies que se utilizan en los laboratorios. En el Japón de hoy, por estudios médicos, al menos 4 210 000 de ratones y otros mamíferos se sacrifican para un total de 6,14 millones al año.²⁴

En relación con el empleo de insectos en la investigación preclínica, *Wang*²⁵ considera que estos proporcionan bajo costo, y que son fiables en comparación con los modelos animales vertebrados convencionales.

Los animales que funcionan como modelos deben ser suficientemente similares a los humanos para que la extrapolación de los estudios preclínicos sea posible. La uniformidad entre los individuos también es importante. El aumento de la variación dentro de la muestra, en parámetros como edad, sexo o heterogeneidad genética, requiere tamaños de muestra mayores para detectar diferencias estadísticas entre los tratamientos; es proporcionalmente más caro para el investigador. Por estas razones, y por la facilidad de producción, más de 95 % del total de animales utilizados en la investigación biomédica son roedores de los géneros *Mus* y *Rattus* que son criados específicamente con ese fin.²⁶

*Buckley*²⁷ considera que la protección de la seguridad de los pacientes es de suma importancia, pero esto no significa que no podamos ser más prudentes en el uso de los animales, en particular de los grandes, como los perros.

Por su parte *Henze*²⁸ es de la opinión que una razón obvia por la que los modelos animales grandes tengan un verdadero potencial para agregar valor al proceso de desarrollo de fármacos es que están filogenéticamente más cerca de los seres humanos que los roedores.

Según *Lukács*,²⁹ la aplicación de modelos animales grandes plantea preocupaciones éticas. El diseño experimental necesita tiempo para los períodos de seguimiento, lo cual requiere de una cría y condiciones de vivienda adecuadas. Estos estudios resultan más costosos que los estudios *in vitro* o en animales pequeños. Por otro lado, la relevancia de los modelos animales grandes es mayor, ya que en su mayoría se asemejan a los procesos fisiopatológicos humanos.

Para *Mak*,³⁰ hay una creciente toma de conciencia de las limitaciones de los animales de investigación y su incapacidad para hacer predicciones fiables para ensayos clínicos humanos. De hecho, los estudios en animales parecen sobrestimar en aproximadamente un 30 % la probabilidad de que el tratamiento sea efectivo. En ese sentido *Shanks*³¹ comenta que se ha puesto en duda el valor de la utilización de animales para predecir la respuesta en humanos.

*Galvizu*³² considera que para seleccionar un modelo animal se debe considerar:

1. Definir la hipótesis a demostrar.
2. Decidir el sustrato clave (célula, tejido, órgano, etc.) que proporciona la respuesta esperada.
3. Determinar en qué especies o cepas se encuentra el sustrato clave.
4. Qué especies resultan más ventajosas desde el punto de vista técnico y qué procesos causarían el mínimo malestar o daño en los animales.
5. Establecer los factores prácticos decisivos: disponibilidad, alojamiento, cuidados, manejo, equipamiento, información publicada, conocimientos técnicos, gastos, etc.
6. Seleccionar el modelo animal basándose en consideraciones científicas, prácticas y éticas.

Los animales de laboratorio, según *Victoria Amador*,³³ deben tener una calidad genética ambiental controlada y ser capaces de dar una respuesta confiable y reproducible. Se debe considerar para su bienestar las características de la especie y sus requerimientos.

Para poder obtener este tipo de animal se deben establecer estrictas medidas y condiciones bajo las cuales se producen y reproducen los animales en los bioterios. Esto se conoce como barreras y abarcan la temperatura, nivel de ruido, intensidad de la luz, esterilización de agua, comida y cama, control microbiológico, ropa adecuada para el personal que labora, etc. Estas medidas garantizan las condiciones tanto genéticas como sanitarias.

Se debe definir las características somáticas (peso, sexo, edad), genéticas y sanitarias, según los requerimientos del experimento.

Los bioterios son el conjunto de instalaciones destinadas al mantenimiento y/o producción de estos animales, que serán empleados como reactivos biológicos.

Son espacios donde se cuida y usa el animal como modelo experimental. Requieren condiciones mínimas adecuadas para su desarrollo y se separan por áreas según la función que en ellas se realice.

Algunas de las especies más utilizadas en las investigaciones biomédicas son:

- Ratón (*Mus musculus*): tamaño pequeño, alta fecundidad, fácil manejo, bajo costo, variabilidad, tienen hábitos nocturnos y viven en jerarquía.
- Rata (*Rattus norvegicus*): el más usado en fisiología, toxicología, farmacología etc.; su tamaño facilita técnicas de microcirugía. Es de 10 a 15 veces mayor que el ratón y tiene menor agresividad.
- Cobayo (*Cavia porcellus*): utilizado en producción de sueros, vacunas etc. Se han desarrollado técnicas *in vitro* utilizando sus órganos. Son herbívoros, cortos períodos de sueño, crías bien desarrolladas al nacer, no sintetizan vitamina C y debe adicionarse en la dieta.
- Conejo (*Oryctolagus cuniculus*): docilidad, fertilidad, grandes vasos en las orejas, se utilizan en pruebas de pirógeno. Son herbívoros con desarrollado sentido del olfato y la audición, ovulación inducida por el coito. Deben ser alojados en jaulas individuales.

Estos animales pequeños tienen grandes ventajas económicas sobre los de mayor tamaño porque son de menor costo de producción, el mantenimiento es más fácil, requieren condiciones más sencillas. Esto disminuye el costo de los proyectos de investigación. Además, con ellos se han logrado desarrollar técnicas *in vitro* que permiten la utilización de menor cantidad. En los estudios toxicológicos, en los que se exige como mínimo 2 especies de animales, resultan muy utilizados.

En Cuba existe el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Se creó con el fin de poder cumplir con las regulaciones internacionales sobre la calidad de los animales de laboratorio y el propósito de que existiera un mejoramiento en la experimentación e investigación con el empleo de biomodelos experimentales; así como satisfacer las demandas técnicas de los centros de investigaciones basada en el uso de animales saludables con un estatus genético e higiénico sanitario conocido y controlado. Este centro está acreditado como rector en la obtención, crianza, reproducción y uso de los animales para la experimentación.

Galvizu³² sostiene que en esta instalación se obtienen diversidad de especies: insectos, anfibios, peces, aves, reptiles, mamíferos, entre otras, que proporcionan cepas puras, consanguíneas o transgénicas según la finalidad del estudio a realizar, todo ello bajo una verdadera planificación y justificación de las investigaciones.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

En el campo de la investigación preclínica se considera la validez interna como el grado en que el diseño y la realización del ensayo eliminan la posibilidad de sesgo.

Existen varios tipos de sesgos que amenazan la validez interna:

- La asignación al azar: Para evitar el sesgo de selección, la asignación al tratamiento se debe basar en la asignación al azar. En parte, esto evita que el investigador tenga que elegir qué tratamiento recibirá un animal en particular. Tales métodos incluyen tanto el uso de reglas predeterminadas (por ejemplo, asignación en alternancia o sobre la base de los días de la

semana) o de los horarios de asignación al azar abiertos. Se ecogen los animales "al azar" de sus jaulas también tiene el riesgo de manipulación consciente o subconsciente, y no representa la verdadera asignación al azar.

En los ensayos clínicos, las técnicas automatizadas de asignación al azar, como la generación de números aleatorios son las más utilizadas, pero los métodos manuales (como lanzar una moneda y dados) también son aceptables, siempre y cuando estos no puedan ser manipulados. Preferentemente, estas técnicas manuales deben ser realizadas por una persona independiente.

- Cegamiento: En los estudios que están cegados a lo largo de su curso, los investigadores y otras personas involucradas no se verán influidos por el conocimiento de la asignación al tratamiento. El conocimiento de la asignación al tratamiento puede afectar el subconsciente y así la evaluación de resultados y la decisión de retirar los animales del experimento.³⁴

Según *Landis*³⁵ se debe realizar una evaluación cegada de los resultados. Los investigadores que evalúan, miden o cuantifican los resultados experimentales deben estar cegados a la intervención.

- Tamaño de la muestra: La selección del tamaño de la muestra es un factor crítico en el diseño de cualquier estudio de comparación. El estudio debe ser lo suficientemente grande como para tener una alta probabilidad de detectar un efecto del tratamiento, si realmente existe tal efecto, y prestar atención a los requisitos legales y las consideraciones éticas y prácticas para mantener el número de animales tan pequeños como sea posible.³⁴
- Estimación de tamaño de muestra: Por su parte *Landis*³⁵ defiende que reducir al mínimo el uso de animales en la investigación no solo es una exigencia de los organismos de financiación en todo el mundo, sino también una obligación ética. No es ético, sin embargo, llevar a cabo experimentos de poca potencia con un número insuficiente de animales que tienen pocas posibilidades de detectar diferencias significativas entre los grupos. Además, con los estudios más pequeños, el valor predictivo positivo es bajo y los resultados falsos positivos pueden derivarse de ello, dando lugar a la utilización innecesaria de los animales en los estudios posteriores que se basan en los resultados correctos. Los estudios con un tamaño de muestra inadecuado también pueden proporcionar resultados falsos negativos, en los que los resultados potencialmente importantes no se detectan.
- Vigilancia de parámetros fisiológicos: Atendiendo a la enfermedad que se investiga, una serie de variables fisiológicas puede afectar el resultado y un control inadecuado de estos factores puede llevar a conclusiones erróneas.
- Criterios de elegibilidad y los abandonos: Debido a su complejidad, muchos modelos animales son inherentemente vulnerables a las complicaciones —como la pérdida involuntaria de sangre durante la cirugía para inducir isquemia cerebral o de miocardio— que no están relacionadas con el tratamiento en estudio, pero que pueden tener un gran efecto en el resultado. Dado el carácter explicativo de los estudios preclínicos, se justifica excluir a los animales con este tipo de complicaciones de los análisis de los efectos del tratamiento, siempre que los criterios de elegibilidad estén dados y que la persona responsable de la exclusión de animales esté conscientes de la situación.

Análisis estadístico

Al análisis estadístico de los resultados de los experimentos con animales se le ha prestado atención en artículos de revisión y libros. Sin embargo, incluso cuando los datos parecen simples y su análisis sencillo, se utilizan a menudo técnicas inadecuadas. Los ejemplos más comunes incluyen el uso de una prueba t de Student para datos no paramétricos, los medios y las desviaciones estándar para el cálculo de los datos ordinales y el tratamiento de múltiples observaciones de un animal como independientes.

Validez externa

Se refiere al grado en que los resultados de un experimento con animales proporcionan una base adecuada para las generalizaciones a la condición humana.

Causas comunes de reducción de validez externa de los estudios en animales:

- Inducción de la enfermedad en un estudio en animales jóvenes y saludables, mientras que en los pacientes la enfermedad se presenta principalmente en personas de edad avanzada.
- Evaluación del efecto de un tratamiento en un grupo homogéneo de animales frente a un grupo heterogéneo de pacientes.
- Uso de modelos para la inducción de una enfermedad o lesión con similitud suficiente para la condición humana.
- Tratamientos que no son realistas en la clínica (uso de dosis tóxicas o no tolerada por los pacientes).
- Diferencias en las medidas de resultado y el momento de la evaluación de resultados entre los estudios en animales y ensayos clínicos.³⁴

Si tenemos en cuenta la definición de medicina traslacional de *Dothel*,³⁶ veremos que unifica términos y requisitos previos para la transferencia de los resultados obtenidos de la investigación biomédica preclínica a las aplicaciones clínicas; y apreciaremos la importancia de un buen diseño y desarrollo de los ensayos preclínicos.

Si analizamos los errores de estudios, podremos citar criterios como el de *Lamontagne*,³⁷ quien plantea que ciertas características metodológicas de los experimentos con animales, tales como la asignación aleatoria para reducir el riesgo de sesgo, son de gran importancia. Debido a que la investigación con animales a veces informa a la práctica clínica, el reconocimiento explícito del riesgo de sesgo y la relevancia clínica cultiva expectativas realistas por parte de los médicos que leen los estudios preclínicos.

Por su parte *Kimmelman*³⁸ expone que muchos estudios con animales no permiten la inferencia causal fiable y generalización clínica, ya que no se ocupan de las amenazas internas importantes y la validez externa. Con respecto a la primera, un análisis reciente de los estudios en animales mostró que solo 12 % utilizó la asignación al azar y 14 % usa la evaluación cegada de los resultados.

Mientras, *Hooijmans*³⁹ esgrime que aunque los experimentos con animales bien diseñados y realizados son una condición necesaria para la traslación de la investigación con éxito, muchos trabajos que implican la experimentación animal son todavía incompletos en su reporte. Claramente, existe una necesidad urgente de mejorar la presentación de informes de los experimentos con animales con el fin de aumentar la calidad científica de los estudios en animales, el bienestar animal y la actualización.

*Baker*⁴⁰ expone su preocupación sobre el hecho de que un mal diseño experimental y la falta de información transparente contribuyen a la falta frecuente de estudios preclínicos en animales para trasladar a los tratamientos de las enfermedades humanas.

Hoy día, constituye una dificultad en este ámbito que la mayoría de los estudios con animales, se centran en la seguridad, y no en la eficacia; además, en raras ocasiones predicen exactamente lo que sucederá en la clínica.⁴¹

Publicación científica

Pocas publicaciones que describen los fenómenos naturales son en sí mismas suficientes para cambiar nuestra comprensión del mundo.⁴² El sesgo de publicación es un fenómeno en que los resultados de un experimento a menudo conllevan a una sobreestimación de los resultados positivos.⁴³

La publicación científica es un tema importante en la investigación científica. En tal sentido *Eiser*⁴⁴ expone las preguntas. ¿Qué responsabilidad tienen los científicos de informar los trabajos experimentales y los análisis que hacen sobre animales de forma plena y transparente? ¿Qué responsabilidades tienen los proveedores de fondos, los editores de revistas y revisores de asegurarse de que lo que se informa se hace de manera apropiada? Mientras que la respuesta a ambas preguntas puede parecer obvia, la evidencia acumulada sugiere que el hecho real de la información de las publicaciones está lejos de ser ideal.

El sesgo de publicación, según *ter Riet*,⁴⁵ coloca en peligro la medicina basada en la evidencia. Es concebible que la falta de hábitos relacionados con la publicación también afecta la investigación con animales de laboratorio, particularmente, por no presentarse los informes de resultados "negativos" lo cual puede constituirse en obstáculo para el avances de las investigaciones con animales de laboratorio, al favorecer la duplicación innecesaria de experimentos y la inducción a estudios prematuros. Por su parte *Macleod*⁴⁶ coincide con este punto de vista y defiende que la tendencia a publicar solo los resultados positivos es otro defecto en la investigación con animales. Este sesgo no solo le impide a los científicos obtener crédito para la investigación de alta calidad que pasa a ser neutral, sino que también le otorga una falsa impresión de eficacia.

Mantener una información clara y completa de todos los elementos de la investigación original es un aspecto crucial de la difusión de pruebas para *Rice*.⁴⁷ Una parte integral de este proceso es una declaración completa y transparente de los métodos utilizados. Esto le permite al lector determinar la calidad metodológica y los defectos del diseño experimental, y la conducta; y por lo tanto, la probabilidad de aparición de sesgo experimental.

Por razones científicas, éticas y económicas, según *Kilkenny*,⁴⁸ los experimentos con animales se diseñarán adecuadamente, serán correctamente analizados y reportados de manera transparente. Esto aumenta la validez científica de los

resultados y maximiza los conocimientos adquiridos en cada experimento. La información relevante debe incluirse en las publicaciones científicas para asegurar que los métodos y resultados de un estudio puedan ser revisados, analizados y replicados. La omisión de información esencial puede plantear problemas científicos y éticos.

Para *Greek*⁴⁹ una de las razones de por qué los experimentos en animales a menudo no se traducen en ensayos en humanos es que muchos experimentos con animales están incorrectamente diseñados, realizados y analizados.

Errores metodológicos frecuentes en publicaciones sobre estudios preclínicos en la rama de la implantología dental

En la esfera de la implantología dental se han desarrollado y publicado múltiples investigaciones preclínicas. Estas han aportado valiosa información sobre parámetros relacionados con la osteointegración, regeneración tisular, entre otros aspectos; que han enriquecido nuestro arsenal teórico en esta área donde convergen varias ramas del saber en el campo estomatológico. Es por tanto, conveniente que al tratar el tema de la investigación preclínica, conozcamos los errores metodológicos que se hayan publicado.

Berglundh,⁵⁰ en un estudio del seguimiento de los requerimientos metodológicos en estudios preclínicos implantológicos, observó que datos relevantes como el cálculo del tamaño muestral y el cegamiento del evaluador a menudo no se informan en estos artículos.

Vignoletti,⁵¹ por su parte, se propuso evaluar la calidad de los informes de la investigación experimental en implantología con una revisión crítica de diseño del estudio, la evaluación de los resultados y la validación de modelos. Concluyó que faltan diseños estandarizados en este tipo de investigación experimental y que en muchos de estos estudios hay limitaciones en la presentación de informes, en la metodología y análisis estadístico.

En tanto, *Schwarz*⁵² formuló una pregunta. ¿Cuál es la calidad de los informes de la investigación preclínica para el estudio y tratamiento de la mucositis/periimplantitis? Para ello realizó una revisión de las bases de datos electrónicas de PubMed y la Biblioteca Cochrane en busca de estudios en animales sobre el tema, a partir de lo cual concluyó que los diseños metodológicos tienen múltiples fallas.

Sin embargo, *Stadlinger*⁵³ se propuso realizar una revisión de la literatura científica en cuanto a los estudios preclínicos que evaluaban la influencia del material, superficie y diseño en la integración de un implante en tejidos blandos y duros. Observó que la calidad de la información aumentó con el tiempo y que pocos informes abordaron criterios como asignación al azar de los animales, razones para el modelo animal y relevancia para los seres humanos.

Mientras, *Thoma*⁵⁴ se planteó buscar en la literatura sobre temas estomatológicos, los modelos preclínicos que evaluaban la integración de implantes en sitios localmente deficientes, y en animales sistémicamente comprometidos con el objetivo de evaluar la calidad de los informes de las publicaciones. Observó que un gran número de estudios cumplieron con los criterios de inclusión y encontró ensayos preclínicos mejor informados en los últimos años.

CONCLUSIONES

El empleo de animales en la investigación preclínica nos ha permitido conocer más profundamente fenómenos fisiológicos y patológicos de nuestra especie, así como obtener pruebas irrefutables de la seguridad de disímiles fármacos, procedimientos, materiales, como paso previo a la aplicación en seres humanos. Sin embargo, el desconocimiento sobre las características inherentes a los biomodelos, los aspectos propios de la investigación preclínica, los elementos del diseño metodológico y el desarrollo de la investigación, pueden introducir errores de análisis y publicación de los resultados que limitan la calidad de la investigación, y contribuyen a la falta de estudios animales confiables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Greek R, Pippus A, Hansen LA. The Nuremberg Code subverts human health and safety by requiring animal modeling. *BMC Med Ethics*. 2012;13:6.
2. Ramalli EL, Ho W, Alves M, Rocha EM. Progress in animal experimentation ethics. A case study from a Brazilian medical school and from the international medical literature. *Acta Cir Bras*. 2012;27(9):659-63.
3. Fernández Hernández J, Heuze de Icaza YM. El programa interno para el cuidado y uso de los animales de laboratorio en las instituciones biomédicas docentes, de investigación científica e industria farmacéutica. *Acta Bioethica* [Internet]. 2007 [citado 2 feb 2014];13(1).
Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X2007000100003
4. Krauth D, Anglemeyer A, Philipps R, Bero L. Nonindustry-Sponsored Preclinical Studies on Statins Yield Greater Efficacy Estimates Than Industry-Sponsored Studies: A Meta-Analysis. *PLoS Biol*. 2014;12(1):e1001770.
5. Briel M, Müller KF, Meerpohl JJ, von Elm E, Lang B, Motschall E, et al. Publication bias in animal research: a systematic review protocol. *Syst Rev*. 2013;2:23.
6. Concepción Alfonso ÁR, de la Peña Pino R, García Capote J. Acercamiento al accionar ético-moral del científico que trabaja con animales de experimentación. *Acta bioeth*. 2007 [citado 2 feb 2014];13(1).
Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S1726-569X200700100002&script=sci_arttext
7. Vandamme TF. Use of rodents as models of human diseases. *Pharm Bioallied Sci*. 2014;6(1):2-9.
8. Quinn RW. Animal models for bench to bedside translation of regenerative cardiac constructs. *Progress in Pediatric Cardiology*. 2013;35:91-4.
9. Parra-Blanco A, González N, González R, Ortiz-Fernández-Sordo J, Ordieres C. Animal models for endoscopic training: do we really need them? *Endoscopy*. 2013 Jun;45(6):478-84.
10. MacCallum CJ. Reporting Animal Studies: Good Science and a Duty of Care. *PLoS Biol*. 2010 June;8(6):e1000413.

11. Hooijmans CR, Ritskes-Hoitinga M. Progress in Using Systematic Reviews of Animal Studies to Improve Translational Research. *PLoS Med.* 2013 July;10(7):e1001482.
12. Henderson VC, Kimmelman J, Fergusson D, Grimshaw JM, Hackam DG. Threats to Validity in the Design and Conduct of Preclinical Efficacy Studies: A Systematic Review of Guidelines for In Vivo Animal Experiments. *PLoS Med.* 2013 July;10(7):e1001489.
13. Leenaars M, Hooijmans CR, van Veggel N, ter Riet G, Leeflang M, Hooft L, van der Wilt GJ, et al. A step-by-step guide to systematically identify all relevant animal studies. *Lab Anim.* 2012 January;46(1):24-31.
14. Hooijmans CR, Tillema A, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M. Enhancing search efficiency by means of a search filter for finding all studies on animal experimentation in PubMed. *Lab Anim.* 2010 July;44(3):170-5.
15. van der Worp HB, Macleod MR. Preclinical studies of human disease: Time to take methodological quality seriously. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 2011;51(4):449-50.
16. Greek R, Rice MJ. Animal models and conserved processes. *Theor Biol Med Model.* 2012;9:40.
17. Varga OE, Hansen AK, Sandøe P, Olsson IA. Validating Animal Models for Preclinical Research: A Scientific and Ethical Discussion. *Altern Lab Anim.* 2010;38:245-8.
18. Wittenburg LA, Gustafson DL. Optimizing preclinical study design in oncology research. *Chem Biol Interact.* 2011;190(2-3):73-8.
19. Milani-Nejad N, Janssen PM. Small and large animal models in cardiac contraction research: Advantages and disadvantages. *Pharmacol Ther.* 2014;141(3):235-49.
20. Kumar V, Bhat ZA, Kumar D. Animal models of anxiety: A comprehensive review. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2013;68(2):175-83.
21. McGonigle P, Ruggeri B. Animal models of human disease: Challenges in enabling translation. *Biochem Pharmacol.* Biochemical Pharmacology. 2014;87(1):162-71.
22. Stewart AM, Kalueff AV. Developing better and more valid animal models of brain disorders. *Behav Brain Res.* 2013. DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2013.12.024>
23. Monteiro R, Brandau R, Gomes WJ, Braile DM. Tendências em experimentação animal. *Rev Bras Cir Cardiovasc [Internet].* 2009 [citado 2 feb 2014];24(4). Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-76382009000500012
24. Sekimizu N, Paudel A, Hamamoto H. Animal welfare and use of silkworm as a model animal. *Drug Discov Ther.* Drug Discoveries & Therapeutics. 2012;6(4):226-9.

25. Wang Y, Li DD, Jiang YY, Mylonakis E. Utility of insects for studying human pathogens and evaluating new antimicrobial agents. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2013;135:1-25.
26. Sikes RS, Paul E. Fundamental Differences between Wildlife and Biomedical Research. *ILAR J.* 2013;54(1):5-13.
27. Buckley LA, Chapman K, Burns-Naas LA, Todd MD, Martin PL, Lansita JA. Considerations Regarding Nonhuman Primate Use in Safety Assessment of Biopharmaceuticals. *Int J Toxicol.* 2011;30(5):583-90.
28. Henze DA, Urban MO. Large animal models for pain therapeutic development. En: *Translational Pain Research: From Mouse to Man.* Boca Raton, FL: CRC Press; 2010.
29. Lukács E, Magyari B, Tóth L, Petrás Z, Repa I, Koller A, Horváth I. Overview of large animal myocardial infarction models (review). *Acta Physiol Hung.* 2012;99(4):365-81.
30. Mak IW, Evaniew N, Ghert M. Lost in translation: animal models and clinical trials in cancer treatment. *Am J Transl Res.* 2014;6(2):114-8.
31. Shanks N, Greek R, Greek J. Are animal models predictive for humans? *Philos Ethics Humanit Med.* 2009;4:2.
32. Galvizu Díaz K, Villar Badía Y, Plasencia Pérez M. Algunas consideraciones bioéticas en la experimentación en animales, seres humanos y trasplantología. *Rev Hum Med.* 2011;11(3):388-412.
33. Victoria Amador MC, Morón Rodríguez FJ. Bioética en experimentación animal para validar usos de plantas medicinales en el Laboratorio Central de Farmacología. *Rev Cubana Plant Med [Internet].* 2010 [citado 2 feb 2014];15(3). Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol_15_3_10/pla08310.htm
34. van der Worp HB, Howells DW, Sena ES, Porritt MJ, Rewell S, O'Collins V, et al. Can Animal Models of Disease Reliably Inform Human Studies? *PLoS Med.* 2010;7(3):e1000245.
35. Landis SC, Amara SG, Asadullah K, Austin CP, Blumenstein R, Bradley EW, et al. A call for transparent reporting to optimize the predictive value of preclinical research. *Nature.* 2012;490(7419):187-91.
36. Dothel G, Vasina V, Barbara G, De Ponti F. Animal models of chemically induced intestinal inflammation: Predictivity and ethical issues. *Pharmacol Ther.* 2013;139(1):71-86.
37. Lamontagne F, Briel M, Duffett M, Fox-Robichaud A, Cook DJ, Guyatt G, et al. Systematic review of reviews including animal studies addressing therapeutic interventions for sepsis. *Crit Care Med.* 2010;38(12):2401-8.
38. Kimmelman J, London AJ. Predicting Harms and Benefits in Translational Trials: Ethics, Evidence, and Uncertainty. *PLoS Med.* 2011;8(3):e1001010.
39. Hooijmans C, de Vries R, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M. The Gold Standard Publication Checklist (GSPC) for improved design, reporting and scientific quality of animal studies GSPC versus ARRIVE guidelines. *Lab Anim.* 2011;45(1):61.

40. Baker D, Lidster K, Sottomayor A, Amor S. Two Years Later: Journals Are Not Yet Enforcing the ARRIVE Guidelines on Reporting Standards for Pre-Clinical Animal Studies. *PLoS Biol.* 2014;12(1):e1001756.
41. Ledford H. Translational research: 4 ways to fix the clinical trial. *Nature* 2011;477(7366):526-8.
42. Sena ES, van der Worp HB, Bath PMW, Howells DW, Macleod MR. Publication Bias in Reports of Animal Stroke Studies Leads to Major Overstatement of Efficacy. *PLoS Biol.* 2010;8(3):e1000344.
43. Korevaar DA, Hooft L, ter Riet G. Systematic reviews and meta-analyses of preclinical studies: publication bias in laboratory animal experiments. *Lab Anim.* 2011;45(4):225-30.
44. Eisen JA, Ganley E, MacCallum CJ. Open Science and Reporting Animal Studies: Who's Accountable? *PLoS Biol.* 2014;12(1):e1001757.
45. ter Riet G, Korevaar DA, Leenaars M, Sterk PJ, Van Noorden CJF, Bouter LM. Publication Bias in Laboratory Animal Research: A Survey on Magnitude, Drivers, Consequences and Potential Solutions. *PLoS One.* 2012;7(9):e43404.
46. Macleod M. Why animal research needs to improve. *Nature* 2011;477(7366):511.
47. Rice ASC, Morland R, Huang W, Currie GL, Sena ES, Macleod MR. Transparency in the reporting of in vivo pre-clinical pain research: The relevance and implications of the ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments) guidelines. *Scandinavian Journal of Pain* 2013;4(2):58-62.
48. Kilkeny C, Parsons N, Kadyszewski E, Festing MFW, Cuthill IC, Fry D, et al. Survey of the Quality of Experimental Design, Statistical Analysis and Reporting of Research Using Animals. *PLoS One.* 2009;4(11):e7824.
49. Greek R, Menache A. Systematic Reviews of Animal Models: Methodology versus Epistemology. *Int J Med Sci.* 2013;10(3):206-21.
50. Berglundh T, Stavropoulos A, Working Group 1 of the VIII European Workshop on Periodontology. Preclinical in vivo research in implant dentistry. Consensus of the eighth European workshop on periodontology. *J Clin Periodontol.* 2012;39(12):1-5.
51. Vignoletti F, Abrahamsson I. Quality of reporting of experimental research in implant dentistry. Critical aspects in design, outcome assessment and model validation. *J Clin Periodontol.* 2012;39(12):6-27.
52. Schwarz F, Iglhaut G, Becker J. Quality assessment of reporting of animal studies on pathogenesis and treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis. A systematic review using the ARRIVE guidelines. *J Clin Periodontol.* 2012;39(12):63-72.
53. Stadlinger B, Pourmand P, Locher MC, Schulz MC. Systematic review of animal models for the study of implant integration, assessing the influence of material, surface and design. *J Clin Periodontol.* 2012;39(12):28-36.

54. Thoma DS, Martin IS, Mühlemann S, Jung RE. Systematic review of pre-clinical models assessing implant integration in locally compromised sites and/or systemically compromised animals. J Clin Periodontol. 2012;39(12):37-62.

Recibido: 1ro de marzo de 2014.

Aprobado: 29 de enero de 2015.

Denia Morales Navarro. Facultad de Estomatología. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba. Correo electrónico: deniamorales@infomed.sld.cu