



Modelos Biológicos en investigación biomédica: características e implicaciones

QFB Abril Alondra Barrientos Bonilla^{1*}

Dra. Laura Mireya Zavala Flores²

Dr. Daniel Hernández-Baltazar^{3,4}

**¹ Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas.
Centro de Investigaciones Biomédicas,
Universidad Veracruzana.**

**² Centro de Investigación Biomédica del Noreste.
Instituto Mexicano del Seguro Social.**

**³ Investigadoras e investigadores por México.
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).**

⁴ Instituto de Neuroetología. Universidad Veracruzana.

***Autor de correspondencia.**

Resumen:

La investigación biomédica requiere métodos confiables, reproducibles y perfectibles, acorde a las regulaciones bioéticas, de bioseguridad y jurídicas implicadas. Esto ha llevado a la creación de diversos modelos, los cuales se definen como protocolos o técnicas estructurados y avalados que permiten el estudio de un fenómeno en especial. En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica en PubMed y Google académico para dar al lector una descripción general de cada uno de los modelos biológicos empleados en ciencias biomédicas. En este artículo presentamos las principales características de los modelos *in silico*, *in vitro*, *ex vivo*, e *in vivo*, destacando sus ventajas, regulaciones bioéticas y limitaciones.

Palabras clave: *Biética, bioseguridad, células en cultivo, modelos animales.*

Abstract:

Biomedical research requires reliable, reproducible and perfectible methods, in accordance with the bioethical regulations; this has led to use of validated and biosafety biologic models. In this work, a bibliographic review was carried out in PubMed and Google (Academic) to give the reader a general description of each of the biological models used in biomedical sciences. In this article, we present the main characteristics of *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo* approaches by highlighting their advantages, bioethical regulations and limitations.

Keywords: *Bioethics, biosafety, cell culture, animal models.*

Introducción:

La generación del conocimiento científico está apoyada en el uso de diferentes técnicas y protocolos que han favorecido la

selección o creación de modelos biológicos para la experimentación, o la investigación observacional. Existen diferentes modelos de estudio (Figura 1), pero en general los podemos agrupar como modelos *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*.

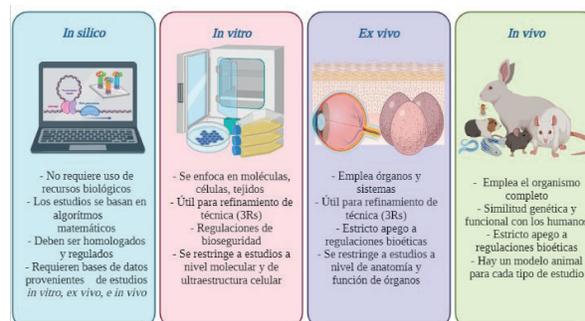


Figura 1. Características generales de los diferentes modelos experimentales utilizados en la investigación biomédica. Ilustración creada en BioRender.com.

El campo de la investigación biomédica es amplio y la selección del modelo experimental debe ser congruente con los objetivos y planteamientos del estudio; sin embargo, la necesidad de que la investigación cubra aspectos transdisciplinarios exige el uso de varios modelos experimentales, lo que implica que estos puedan vincularse. En este trabajo realizamos una revisión detallada en bases como PubMed y Google académico con el objetivo de conocer los modelos experimentales y sus principales características, para facilitar la selección de uno u otro cuando sea necesario.

Modelos In Silico

Los algoritmos matemáticos y estadísticos permiten generar modelos computacionales que proporcionan información valiosa para el diseño experimental, lo que ha propiciado el desarrollo de la bioinformática. La bioinformática se encarga de adquirir, almacenar, analizar y diseminar la información biológica, enfocándose en el estudio de estructuras

macromoleculares, secuencias genómicas y los resultados de experimentos de genómica funcional (NHGRI, 2022; Luscombe, Greenbaum, y Gerstein, 2001). La implementación de recursos *in silico* ha permitido la creación de bases de datos como la Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), OMIM (<https://www.omim.org/>), entre otras, que permiten a los usuarios generar simulaciones de fenómenos reales y modificar las variables que los acompañan utilizando la información disponible en tiempo real que otros investigadores han obtenido. El uso de esta información permite analizar las posibles consecuencias/efectos en investigaciones biomédicas antes de realizar modelos *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*, de forma que cuando se llega a este nivel se han estudiado varios escenarios y sus posibles soluciones.

Quizás algunas de las herramientas bioinformáticas más conocidas son el programa de relación de estructura y actividad (SARs, por sus siglas en inglés) que predice la actividad biológica de un fármaco candidato y el software Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR) que evalúa las características fisicoquímicas de una molécula y su actividad biológica potencial (Doke y Dhawale, 2015). Existen otras herramientas bioinformáticas que también resultan de utilidad para el análisis e interpretación de datos obtenidos de modelos *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*, como es el caso de los procesadores de imágenes como ImageJ, y simuladores de electro-

foresis o cortes enzimáticos como Nebcutter (<http://nc2.neb.com/NEBcutter2/>).

Una de las grandes desventajas de la bioinformática es que, debido a su reciente auge, aun no hay leyes o reglamentos que la regulen directamente. No obstante, se pueden aplicar algunos lineamientos dirigidos a la informática; en México podemos considerar la Ley Federal de Derechos de Autor, la Ley Federal de Protección de Datos, la Ley de Transparencia y Acceso a la Información, y la Ley Federal de Telecomunicaciones que están directamente relacionadas con el diseño y uso de programas computacionales y almacenamiento de la información (Arellano y Méndez, 2014).

Modelos *In Vitro*

Los modelos *in vitro* son aquellos que se realizan afuera de un organismo, normalmente sobre una matriz biológica de tejido, células, componentes celulares o biomoléculas que son cultivados en placas y que de manera general se obtienen de un proveedor que los ha aislado, purificado y muchas veces inmortalizado. Se caracterizan por ser rápidos, económicos (en comparación con otros modelos) y requieren pequeñas cantidades del material de estudio. Las técnicas empleadas comúnmente en este tipo de modelo experimental es el cultivo de microorganismos como bacterias y levaduras y cultivos de líneas celulares específicas en 2D como las células HeLa (Figura 2) (Meneau-Hernández, 2014).

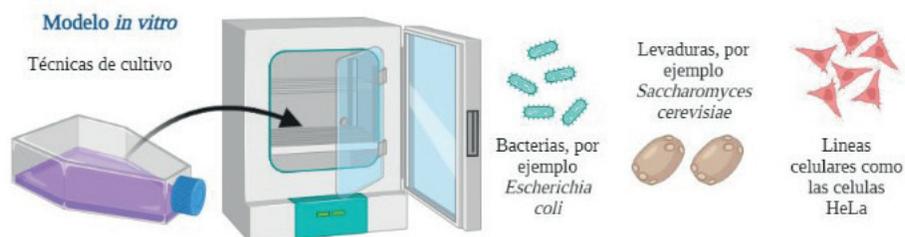


Figura 2. Modelos *in vitro*. La principal técnica de estos modelos es el cultivo de microorganismos o líneas celulares. Ilustración creada en BioRender.com.

Estos modelos ofrecen la ventaja de simplificar el tema de estudio hasta cierto punto, pues puede ser altamente específico sobre un componente celular en particular, sin embargo, esta simplificación puede resultar contraproducente al momento de extrapolar los resultados a organismos completos, por lo cual se debe tener especial cuidado al momento de redactar y discutir los resultados.

Los modelos *in vitro* se rigen por protocolos que en su mayoría se encuentran estandarizados, no obstante, se pueden usar modelos que no lo estén siempre y cuando se realice el registro de todo el protocolo y este sea avalado ante un comité evaluador ajeno a la Institución en la que se realice la investigación. Además, existen guías que pueden servir al investigador como la que ofrece la Agencia Química Europea (European Chemical Agency, 2016) titulada ¿Cómo utilizar alternativas a la experimentación con animales?, el manual de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2020), y otros libros de consulta sobre las técnicas básicas de cultivo celular y de tejidos.

En México no existe una ley directa que hable sobre los experimentos *in vitro*, sin embargo, hay normas que se pueden aplicar para la investigación biomédica

en matrices biológicas como la NOM087-ECOLSSA1-2002 que habla del manejo, transporte y disposición final de los residuos biológicos infecciosos (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002) y la NOM-EM-001-SSA1-2012 que abarca la producción de cultivos celulares (Secretaría de Salud, 2012).

Modelos *Ex Vivo*

Los modelos *ex vivo* hacen uso de órganos, tejidos, células o fluidos corporales de sujetos vivos, o de sistemas organizados que contienen en su interior células -como los huevos que contienen los gametos sin fecundar- y que se colocan en un ambiente artificial lo más parecido a las condiciones naturales (Figura 3). Este tipo de modelo tiene una duración menor a las 24 h, pues de lo contrario se consideraría un modelo *in vitro*. En muchas ocasiones las muestras de estos modelos son obtenidas a partir de cirugías donde el órgano, tejido o células son removidas por el bienestar del paciente o bien de animales sacrificados con otros fines donde las muestras no se vieron afectadas, de esta forma siguen los principios para la investigación de reemplazo, reducción y refinamiento propuestos en la década de los 60's por Russell y Burch y que se conocen como los principios de las 3R (MacArthur Clark, 2018; Abubakar et al., 2016; Meneau-Hernández, 2014).



Figura 3. Los modelos ex vivo utilizan muestras obtenidas de organismos completos en donde su remoción no representa un peligro, o de organismos que son utilizados para otros fines y de los cuales se pueden obtener muestras viables para la investigación. También es posible utilizar sistemas celulares ya organizados como los huevos. Ilustración creada en BioRender.com.

El uso de estos modelos ha sido extendido al campo de la toxicología, en donde podemos encontrar diseños experimentales como el ensayo de Prediskin en donde se utiliza piel obtenida de donaciones de cirugías plástica para evaluar la irritabilidad y corrosión dérmica (Martínez-Ocaña, 2007); el ensayo de opacidad corneal en cornea bovina donde la muestra se puede obtener de animales destinados a fines alimenticios (OECD, 2009); y el ensayo de HET-CAM donde se evalúa la irritabilidad ocular empleando las membranas de un huevo de gallina (De Lapuente et al., 2014).

Este tipo de modelo experimental está en desarrollo, como una alternativa antes de llegar directamente a los modelos in vivo; ofreciendo la ventaja de observar los fenómenos de estudio en un nivel de mayor complejidad celular o de muestras directas de pacientes clínicos sin involucrar complicaciones bioéticas de alto nivel como el manejo directo de sujetos vivos.

Modelos In Vivo

Los modelos in vivo hacen uso de animales, basándose en lo que se conoce como medicina comparada. La medicina comparada fue descrita por vez primera en el siglo VI por Alcmeón de Crotona y se refiere a la similitud de características fisiológicas y de comportamiento que existen entre los animales y los humanos (Ericsson et al., 2013).

La selección de las especies más idóneas para la investigación es variada, pero en general se rigen en función de su similitud anatómica, desarrollo social, cognitivo, y la pregunta de investigación. Entre los animales más empleados en la investigación biomédica destacan los perros, gatos, cerdos, caballos, primates, conejos, ratas, ratones, hámsteres, y más recientemente aves, peces como el pez cebra, insectos como la mos-

ca de la fruta, y algunos nemátodos (un tipo de gusanos de tamaño milimétrico) (Figura 4) (Cassar et al., 2020; Fernandes y Pedroso, 2017; Gad, 2006; Nigon y Felix, 2017).

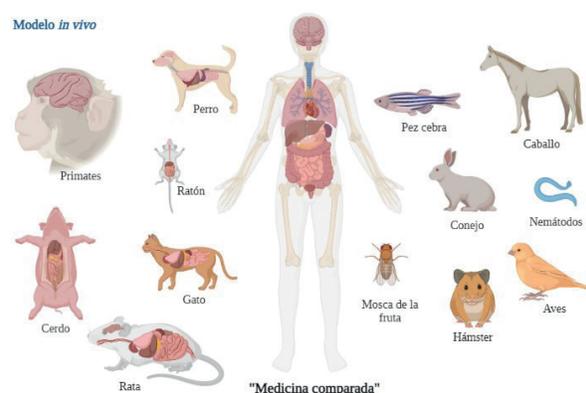


Figura 4. Los modelos in vivo emplean animales. El uso de animales es posible gracias a la medicina comparada, ya que se conoce que compartimos rasgos y condiciones fisiológicas y etológicas con algunos animales. El uso y selección de las diferentes especies varía en función de los fines de la investigación, la imagen muestra animales usados en la investigación biomédica con fines farmacológicos, inmunológicos, toxicológicos, etológicos, metabólicos y quirúrgicos. Ilustración creada en BioRender.com.

Los roedores, principalmente la rata (*Rattus norvegicus*) y ratón (*Mus musculus*), han sido de los modelos in vivo más empleados para la investigación biomédica debido a que ofrecen ventajas como son el bajo costo de mantenimiento en instalaciones de alojamiento, la reproducibilidad y la similitud biológica con el ser humano (Robinson et al., 2019; Fernandes y Pedroso, 2017).

El empleo de los modelos in vivo ha despertado en la comunidad cuestionamientos sobre el bienestar animal. El bienestar animal puede definirse como el estado físico y mental óptimo de un animal en relación con las condiciones en las que vive y su entorno, es decir su capacidad de adaptación tanto a estímulos positivos como negativos,

sin caer en un estado negativo o de daño innecesario (Ohl y Van der Staay, 2012).

La aplicación de estrategias en pro del bienestar animal depende del criterio bioético de los investigadores, razón por la cual se han dispuesto lineamientos (Tabla 1) que garanticen el bienestar animal (Robinson et al., 2019; Fernandes y Pedroso, 2017). Además, se han establecido comités institucionales y organizaciones como la Organización Mundial de Sanidad Animal (<https://www.oie.int/es/inicio/>), el Centro Nacional para el Reemplazo, Refinamiento y Reducción de Animales en Investigación (NC3Rs, <https://www.nc3rs.org.uk/>), y el Comité Intergubernamental de Bioética de la UNESCO (<https://en.unesco.org/themes/ethics-science-and-technology/ibc>) que cuidan el bienestar de los animales durante la investigación

En México existen normas que protegen el bienestar animal como la NOM-062-ZOO-1999 de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales

de laboratorio (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 1999), la NOM003ZOO1994 de Operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoonosanitaria (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 1994), la NOM-029ZOO1995 de Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas y/o análisis en materia zoonosanitaria (Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, 1995), y la NOM087-ECOLSSA1-2002 de Manejo, transporte y disposición final de los residuos biológicos infecciosos (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2002).

A nivel internacional los esfuerzos por la regulación del bienestar animal han llegado a la promoción de la Declaración Universal sobre Bienestar Animal (DUBA), una propuesta intergubernamental para reconocer que los animales son seres capaces de sentir y sufrir, con necesidades de bienestar que deben ser respetadas y

Lineamiento	Descripción
Cinco libertades (Aluja, 2011),	Hace referencia a que los animales deben de estar libre de hambre y sed, libres de miedos y angustias, libre de dolor y lesiones innecesarias, libre para expresar su comportamiento y tener la libertad de estar en un ambiente propicio.
3R de Russell y Burch (MacArthur Clark, 2018)	Propone que en la investigación se deben de aplicar estrategias para <i>Reducir</i> el número de animales empleados, alternativas de <i>Reemplazo</i> que eviten o sustituyan el uso de animales, y alternativas de <i>Refinamiento</i> en los protocolos, técnicas y métodos de crianza de animales.
Escala de Grimace (Sotocinal et al., 2011)	Es una herramienta visual para medir el dolor en los animales, mediante la cual se evalúan los cambios en sus expresiones faciales, corporales y de comportamiento, a las cuales se les asigna un valor en función de si el animal tiene o no algún tipo sufrimiento derivado del tratamiento experimental al que se sometió.

Tabla 1. Lineamientos para el bienestar animal

que la crueldad hacia ellos debe terminar, y a la cual México se integró en el año de 2010 (Spilsbury, 2016). Además, existen guías internacionales que orientan a los investigadores como La Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (en inglés The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals del National Institutes of Health) y las recomendaciones del NC3Rs disponibles en su página en línea.

Vinculación De Modelos Biológicos

Los modelos in silico resultan una herramienta útil para simular y analizar las variables experimentales, lo que promueve el refinamiento de las técnicas. Los modelos in vitro proporcionan información valiosa pero solo sobre un componente o célula en concreto, y no siempre se correlacionan con su contraparte in vivo. Los modelos ex vivo permiten evaluar de forma casi inmediata y en corto plazo el fenómeno, sin embargo, resulta evidente la falta de modelos estandarizados, así como complejidad en la obtención de los tejidos, no obstante, son una alternativa que se deben seguir trabajando. En suma, existe posibilidad de vincular los modelos biológicos para la obtención de datos más confiables, reproducibles y extrapolables.

Conclusión

La diversidad de modelos experimentales, lejos de ser factor que complique el avance científico, permite el análisis a nivel nano y macroscópico. Por lo que, para lograr una correcta vinculación entre los modelos experimentales, y nos encontremos en posibilidad de extrapolar datos de investigación, es necesario contar con una pregunta de investigación concreta, además de sólidas habilidades técnicas y responsabilidad bioética evidente.

Referencias

- Abubakar, A. A., Noordin, M. M., Azmi, T. I., Kaka, U., & Loqman, M. Y., The use of rats and mice as animal models in ex vivo bone growth and development studies. *Bone Joint Res*, 5[12], pp. 610-618, 2016.
- Aluja, A. S. d., Bienestar animal en la enseñanza de Medicina Veterinaria y Zootecnia: ¿Por qué y para qué? *Veterinaria México*, 42[2], pp. 137-147, 2011.
- Arellano, M. d. C. A., y Méndez, C. Á., Leyes vigentes en México para los programas de cómputo, las bases de datos y su documentación. *Computación y Sistemas*, 18[2], pp. 417-423, 2014.
- Cassar, S., Adatto, I., Freeman, J. L., Gamse, J. T., Iturria, I., Lawrence, C., Muriana, A., Peterson, R. T., Van Cruichten, S., & Zon, L. I., Use of Zebrafish in Drug Discovery Toxicology. *Chem Res Toxicol*, 33[1], pp. 95-118, 2020.
- De Lapuente, J., Borrás, M., González-Linares, J., Llanas, H., Mitjans, M., Ramos-López, D., y Vinardell, P., Los métodos alternativos en el estudio de la seguridad de cosméticos. *Revista de toxicología*, 31[2], pp. 140-148, 2014.
- Doke, S. K., & Dhawale, S. C., Alternatives to animal testing: A review. *Saudi Pharm J*, 23[3], pp. 223-229, 2015.
- Ericsson, A. C., Crim, M. J., & Franklin, C. L., A brief history of animal modeling. *Mo Med*, 110[3], pp. 201-205, 2013.
- European Chemical Agency, E., How to use alternatives to animal testing to fulfil your information requirements for REACH registration, 2016. <https://echa>.

- europa.eu/documents/10162/17250/practical_guide_how_to_use_alternatives_en.pdf/148b30c7-c186-463c-a898-522a888a4404
- Fernandes, M. R., & Pedroso, A. R., Animal experimentation: A look into ethics, welfare and alternative methods. *Rev Assoc Med Bras* (1992), 63[11], pp. 923-928, 2017.
 - Gad, S. C., *Animal models in toxicology* (2° Ed ed.): Taylor & Francis, Florida, USA, 2006.
 - Lancaster, M. A., & Huch, M., Disease modelling in human organoids. *Dis Model Mech*, 12[7], 2019.
 - Luscombe, N. M., Greenbaum, D., & Gerstein, M., What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field. *Methods Inf Med*, 40[4], pp. 346-358, 2001.
 - MacArthur Clark, J., The 3Rs in research: a contemporary approach to replacement, reduction and refinement. *Br J Nutr*, 120[s1], pp. S1-S7, 2018.
 - Martínez Ocaña, V., *Marcadores de irritación en modelos celulares y organotípicos como alternativa a los ensayos in vivo, aplicado al estudio de tensioactivos del tipo lipoaminoácido*: Universitat de Barcelona [Tesis Doctoral], España, pp. 32, 2007.
 - Meneau Hernández, R. I., *Métodos Alternativos en Toxicología*. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 45[1], pp. 11-21, 2014.
 - NHGRI, National Human Genome Research Institute., *Bioinformatics*, 2022.
 - <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Bioinformatics>
 - Nigon, V. M., & Felix, M. A., *History of research on C. elegans and other free-living nematodes as model organisms*. *WormBook*, 2017, pp. 1-84, 2017.
 - OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development., *Test No. 437: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants*, 2009. <https://www.oecd-ilibrary.org/content/publication/9789264076303-en>
 - Ohl, F., & van der Staay, F. J., *Animal welfare: at the interface between science and society*. *Vet J*, 192[1], pp. 13-19, 2012.
 - Robinson, N. B., Krieger, K., Khan, F. M., Huffman, W., Chang, M., Naik, A., Yongle, R., Hameed, I., Krieger, K., Girardi, L. N., & Gaudino, M., *The current state of animal models in research: A review*. *Int J Surg*, 72, pp. 9-13, 2019.
 - Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, *Norma Oficial Mexicana NOM-003-ZOO-1994: Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria*. *Diario Oficial de la Federación*, México, 1994.
 - Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, *Norma Oficial Mexicana NOM-029-ZOO-1995: Características y especificaciones para las instalaciones y equipo de laboratorios de pruebas y/o análisis en materia zoosanitaria*. *Diario Oficial de la Federación*, México, 1995.
 - Secretaría de Agricultura Ganadería

- Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación, México, 1999.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002: Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. Diario Oficial de la federación, México, 2002.
 - Secretaria de Salud, NOM-EM-001-SSA1-2012, Medicamentos biotecnológicos y sus biofármacos. Buenas prácticas de fabricación. Características técnicas y científicas que deben cumplir éstos para demostrar su seguridad, eficacia y calidad. Etiquetado. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad y farmacovigilancia. Diario Oficial de la federación, México, 2012.
 - Sotocinal, S. G., Sorge, R. E., Zaloum, A., Tuttle, A. H., Martin, L. J., Wieskopf, J. S., Mapplebeck, J. C., Wei, P., Zhan, S., Zhang, S., McDougall, J. J., King, O. D., & Mogil, J. S., The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Mol Pain*, 7, 55, 2011.
 - Spilsbury, M. A., III. La ciencia del bienestar animal. *La Paradoja del Bienestar Animal*, pp. 9, 2016.
 - WHO, World Health Organization., *Laboratory biosafety manual*, (4° ed.). USA, 2020.