



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación

Trabajo Fin de Grado

**Introducción a la
experimentación con
animales**

Alumno: Aitana Mercedes Sánchez Marín

Tutor: Prof. D. Carmen Torres Bares
Dpto: Dpto. Psicología

Julio, 2015

INDICE

Resumen y palabras clave.....	2
1.-La experimentación animal dirigida al desarrollo de la psicología humana.....	3
2.- Modelos animales.....	6
3.- El procedimiento de experimentación.....	9
4.- Generalidades sobre la rata Wistar como modelo animal.....	12
4.1.- Características fisiológicas y anatómicas.....	13
4.2.- Iluminación.....	13
4.3.- Temperatura y humedad relativa.....	14
4.4.- Dieta.....	14
4.5.- Sonido.....	15
4.6.- Manejo.....	15
5.- Ética en la investigación con modelos animales experimentales.....	16
6.- Aspectos legales en España.....	21
7.- Discusión.....	32
8.-Anexos.....	34
9.-Bibliografía.....	36

RESUMEN

Este trabajo de fin de grado trata sobre los proyectos de investigación que involucran animales vivos, haciendo un recorrido desde la apreciación del animal como sujeto de investigación hasta los distintos modelos animales utilizados hoy en día, pasando por todas las leyes que se han desarrollado al respecto para proteger el bienestar animal. Los modelos animales son ampliamente asumidos y aceptados en la comunidad científica por los grandes avances que se consiguen en distintas áreas mediante su utilización, por lo que es de primera necesidad una normativa que regule todos los aspectos relacionados con la cría, transporte, suministro y utilización en experimentación para preservar el bienestar de los animales. En esto se centrarán los puntos más desarrollados del trabajo, para intentar proporcionar una síntesis de los aspectos éticos y legales que todo investigador debe conocer antes de plantearse comenzar un experimento con animales vivos.

Palabras clave: Bienestar animal, investigación, ley, normativa, rata, Wistar, Universidad de Jaén.

ABSTRACT

This final degree paper is about the research projects involving live animals, from the appreciation of the animal as a research subject to the different animal models used today, through all the laws that have been developed to protect these animals. Animal models are widely assumed and accepted in the scientific community for the advances that are achieved in different areas through their use, so it is essential to have rules to regulate all aspects related with breeding, transportation, supplying and use in experimentation to safeguard the animal welfare. The most important parts of this paper will be focused on this, trying to provide a synthesis of ethical and legal issues that every researcher should know before considering starting an experiment with live animals.

Keywords: Animal welfare, research, law, rat, Wistar, University of Jaén

1.- La experimentación animal dirigida al desarrollo de la psicología humana

Las razones por las que se utilizan animales de laboratorio son múltiples en todas las ciencias, pero en el caso de las ciencias comportamentales y en concreto de la Psicología estas son especialmente importantes. La vida humana y los comportamientos que las personas realizamos siempre han suscitado un enorme interés para los científicos, ya sean éstas conductas patológicas, normales o se incluyan en el espectro existente entre los dos polos. Un reflejo de esto son los experimentos realizados con humanos que se llevaron a cabo entre los años 1933 y 1945 durante la Segunda Guerra Mundial, donde se cometieron atrocidades camufladas de experimentación médica, fisiológica y psicológica tomando como sujetos experimentales a las personas recluidas en los campos de concentración nazis. Este episodio dio lugar al llamado Código de Nuremberg, que fue publicado el 20 de Junio de 1947 y que tenía como finalidad sentar las bases de las experimentaciones realizadas en humanos en las épocas posteriores, estableciendo nuevas directrices entre las que se encontraba la obligación de obtener el consentimiento del sujeto y el deber del científico de parar la investigación en cualquier momento si el investigador no se veía capacitado para ello o si se producía cualquier tipo de daño (Leford, 2005). A partir de este momento, las investigaciones oficiales realizadas con personas como sujetos experimentales estaban sujetas a una serie de firmes normas que buscaban proteger de las malas prácticas a los sectores más desprotegidos de la población.

Otro hito de la investigación científica se produjo cuando los modelos de experimentación animal pasaron a ocupar un lugar preminente entre los laboratorios de Psicología de todo el mundo, y esto supuso que los problemas éticos y legales se vieran superados en gran medida, ya que el uso de animales facilitaba el control de muchas variables imposibles de manipular en la vida de una persona.

Sin embargo, esta vía tampoco ha estado exenta de crítica. La práctica con animales de laboratorio ha estado en el punto de mira desde hace décadas, un ejemplo de ello es la publicación de libros tales como *Liberación Animal* del filósofo Peter Singer o *Víctimas de la Ciencia* del psicólogo Richard Ryder. Ambas obras literarias son del año 1975, pero cuentan con una gran presencia en los debates sobre experimentación animal incluso hoy en día, después de 40 años. El contenido de ambos libros está muy relacionado, ya que los dos realizan una defensa de los derechos de los animales basada en la supuesta crueldad a la que son sometidos en los procedimientos experimentales y la equiparación moral de actos similares realizados en humanos que sin embargo sí han sido condenados por toda la

sociedad, como los ya citados experimentos de los campos de concentración nazis (Bowd, 1990).

Los ataques realizados por personas opuestas a la experimentación animal se han seguido sucediendo desde el inicio de la práctica, con personas de todos los campos clamando por métodos alternativos y resaltando que el trato dado a los animales no debe ser siempre ocultado bajo la capa de la objetividad y la ciencia. Otro gran argumento consiste en que hay que acabar con la falacia del reduccionismo imperante en la ciencia moderna, que considera que los organismos más complejos son sólo repeticiones y multiplicaciones de los organismos más pequeños, algo que para esta facción del debate es ilógica (Michael, 2000).

Los animales difieren de las personas en varios aspectos biológicos, pero quizá el más llamativo para la psicología sea la mayor evolución del córtex prefrontal observada en humanos. La corteza prefrontal es la estructura encargada de los procesos cognitivos más complejos y de aspectos socioemocionales considerados típicamente humanos, como la cognición social. Se observa con especial prevalencia este tipo de déficits socioemocionales en pacientes clínicos con lesiones en la corteza orbitofrontal y en la corteza prefrontal dorsolateral (Mah, Arnold, & Grafman, 2004). Debido a estas diferencias neuroanatómicas parece no tener mucho sentido estudiar variables tales como el grado de socialización de un animal lesionado deliberadamente y una persona con un daño similar. Sin embargo esta distancia no es suficiente como para desechar la idea a priori.

A pesar de esta primera conclusión de que somos organismos diferentes, existe evidencia de que la organización del sistema nervioso en animales no humanos es similar a la de las personas y permite cierto grado de comparación; prueba de ello son todos los estudios sobre neuroquímica o estructuras cerebrales realizados con modelos animales y que tienen su correspondencia básica y clínica en humanos.

En cuanto a lo comportamental, no debemos olvidar que el animal de laboratorio proporciona medidas exactas de todo lo que influye en la situación planteada, y que un modelo animal bien construido debe poder recrear condiciones que ayuden a identificar las causas y el desarrollo de la enfermedad en todas las etapas de la vida (McCarty & Schneiderman, 1988). Entre estas circunstancias controlables se encuentran algunas imposibles de recrear en humanos, como las historias genéticas, las historias de vida, estados de privación sensorial o fisiológica, lesiones, períodos de control más o menos largos, etc., de forma que si por

ejemplo nos interesa saber cómo aprende a distinguir formas un animal, podemos criarlo en la más absoluta oscuridad hasta que comience el experimento.

Con este poder del investigador de controlar todo lo que podría ser interesante, surge de nuevo la polémica, y esta es: ¿Es válido cualquier procedimiento para obtener datos cuantificables de la conducta observada? La respuesta es, obviamente, no. Los animales usados en la investigación conductual son sometidos a todo tipo de experimentos, pero en la actualidad es impensable llevar a cabo cualquier estudio que pudiera ser adverso para el animal sin tener totalmente clara la finalidad básica o terapéutica, y por supuesto asegurando que el daño al que va a ser sometido no puede ser minimizado más de lo que ya lo está.

No así sucedía en los albores de la Psicología, cuando salían a la luz algunos experimentos tristemente célebres como los llevados a cabo por el doctor Harry Frederick Harlow. El psicólogo Harry Harlow llevó a cabo varios experimentos a todas luces incomprensibles para el investigador de hoy en día, e incluso en su propia época fue señalado por sus compañeros de profesión debido a sus experimentos sobre aislamiento social en monos Rhesus, entre otros. El famoso experimento “*Pit of despair*” o Pozo de la Desesperación, realizado en 1960, fue un macabro intento de definir las conexiones de amor entre madre-hijo y las variables que acompañaban a esta relación, y en el curso de la investigación los monos utilizados como animal de experimentación eran sometidos a condiciones de sufrimiento y tortura psicológica inimaginables (van der Horst, 2008).

Este episodio oscuro de la psicología fue uno de los desencadenante del actual Código Deontológico de Experimentación Animal y del movimiento de liberación animal en los E.E.U.U., y si algo positivo podemos extraer de estos penosos sucesos es la clara convicción de que la vida de los animales utilizados en el laboratorio merece respeto.

Afortunadamente, las investigaciones llevadas a cabo hoy en día distan mucho de las anteriormente mencionadas, y el uso de modelos animales para aplicaciones humanas está rigurosamente controlado y goza de gran prestigio internacional.

2.- Modelos animales

Según la página web oficial del genoma humano, un modelo animal se define como “*una especie no humana que se usa en investigación médica porque puede extrapolar aspectos de una enfermedad humana. Los modelos animales permiten obtener información sobre una patología y cómo prevenirla, diagnosticarla y tratarla. Usando animales, los investigadores pueden realizar experimentos que serían impracticables o no éticos si se hicieran en humanos.*”

Siguiendo esta línea, el punto de mayor importancia a tener en cuenta es la correspondencia clínica de la enfermedad en animales y humanos para que el modelo animal sea válido. Si el modelo animal no tiene correspondencia con el ser humano, no tiene ningún sentido asumir conclusiones ni extrapolar conocimientos.

De esta forma, el modelo debe ajustarse a dos términos generales: por un lado los controles positivos, esto es, una determinada sustancia que tenga efectos en la práctica clínica habitual debe seguir teniéndolos en el modelo animal, y de la misma forma los controles negativos, o que las sustancias que no sean plausibles para la práctica clínica habitual tampoco tengan efectos sobre el modelo animal (Montero, Tur & Romero, 2008).

La utilidad de los modelos animales es de mucha importancia, puesto que se podría pensar que los mismos efectos terapéuticos podrían observarse sobre cultivos de bacterias, de tejidos o de cualquier elemento vivo *in vitro*, pero no es así, ya que la complejidad del organismo vivo no se puede reducir a un cultivo de células por muy extenso que éste sea. Después de más de 20 años en pos de encontrar reemplazos adecuados a un animal, los resultados obtenidos han sido unos pocos modelos moleculares que cuentan con un grado aceptable de validación (Smith, 2001).

Lo mismo ocurre con las variaciones conductuales que interesan al ámbito de la psicología, debido a la complejidad de la naturaleza que tienen las conductas humanas es difícil encontrar un sustituto fiable de la práctica con seres vivos.

Por ello llegamos a la utilización de animales como manera de intentar imitar o replicar circunstancias y conductas humanas en un modelo que nos sirva de guía en el avance de la búsqueda del conocimiento. Esta búsqueda de alternativas sucede por el gran obstáculo que supone para la observación de humanos con distintos daños el hecho de que dicha observación sólo se pueda realizar dentro de la práctica clínica, debido a la dificultad que supone controlar las variables que acompañan a la situación. A pesar de esto, cuando se

consigue que una persona acceda a todo lo que implica ser el sujeto experimental de una investigación en desarrollo, resulta complicado hacer una estimación del daño producido durante el episodio. En la mayoría de los casos falta información relativa a la historia y circunstancias previas a la lesión, por lo que serían necesarias grandes muestras de sujetos para llegar a unos resultados que sean interpretables y de los que se puedan obtener conclusiones fiables (van der Staay, 2006).

Los modelos animales se pueden clasificar siguiendo las tipologías de diversos autores, pero quizá la más extendida sea la que considera como criterio para pertenecer a una u otra categoría la finalidad o el objetivo que persigue el modelo.

Siguiendo al químico y psicólogo William T. McKinney (1988) podemos distinguir entre modelos dirigidos por teorías, modelos mecanicistas, modelos de validez empírica y los más usados en psicología, modelos de similitud conductual.

Los primeros, llamados modelos dirigidos por teorías, se centran en analizar las premisas de teorías ya desarrolladas para intentar explicar el comportamiento humano basándose en las respuestas de los animales.

Los modelos mecanicistas se dirigen a identificar las bases neurobiológicas de las respuestas emitidas ante diferentes estímulos, y buscan los mecanismos de acción biológica subyacente a la conducta.

Los modelos de validez empírica se utilizan para observar los efectos de las distintas sustancias sobre la conducta, de forma que se administra una determinada sustancia al animal por la vía convenida y se analizan los efectos que tiene sobre su comportamiento. Por su parte, los modelos de similitud conductual se centran en replicar de manera lo más parecida posible una determinada conducta humana en un animal, para así identificar y analizar las variables que la determinan.

Dado que lo que interesa a la psicología es la adquisición, mantenimiento y extinción de una determinada conducta, estos modelos de similitud conductual son los que más se ajustan a los requisitos del objetivo perseguido por esta ciencia y los que se utilizan ampliamente para determinar las variables que afectan a la emisión o la no emisión de determinadas respuestas.

Para ampliar esta línea, Gray (Gray et al., 1981, citado en Conesa y Brugger, 1998) hace una distinción entre tres tipos de modelos: modelos predictivos o correlacionistas, modelos isomorfos y modelos homólogos. De la misma forma que los anteriores, cada uno se define por el objetivo que persigue su aplicación:

Los modelos predictivos intentan determinar qué sustancias tienen relación con las patologías del hombre, pero siendo estas recreadas en animales con el fin de buscar sustancias aplicables selectivamente a distintos tipos de enfermedades.

Los modelos isomorfos por su parte se ocupan de intentar reproducir en el animal estados propios de la patología humana para poder obtener medidas fiables y controladas del desarrollo de la enfermedad.

Por último, los modelos homólogos están orientados a las causas de los trastornos psicológicos humanos, es decir, los desencadenantes de los trastornos, y a intentar reproducirlas en los animales lo más fidedignamente posible.

Pero con estas clasificaciones no basta, para que un modelo animal sea correcto necesitamos referirnos a criterios relacionados con la eficacia y la validez del mismo. La validez es relativa en el sentido de que un instrumento puede ser válido para un fin concreto y a la vez no ser válido para otros muchos, por tanto, la validez se suele referir al objetivo y los resultados interpretables del instrumento más que al propio instrumento en sí (Morales, 2003). Para referirnos a estos criterios de validez y de eficacia se han establecido unos términos ampliamente aceptados referidos a validez aparente, validez predictiva y validez de constructo, que hacen referencia a distintos tipos de finalidad.

Siguiendo a Morales, la validez aparente se refiere a que ha de haber un parecido observable entre la conducta emitida por el animal y los síntomas de la patología estudiada, es decir, que realmente mida lo que parece medir. Por otro lado está la validez predictiva o utilidad del instrumento, que se relaciona con los conceptos de control negativo y control positivo ya mencionados, y se refiere a identificar procedimientos terapéuticos que tengan efectos en el modelo para aplicarlos a la práctica clínica. Por último consideramos la validez de constructo, que se relaciona con la correspondencia entre la representación que se da a un determinado conjunto de temas y la realidad de los mismos.

En el Anexo I se muestra un excelente resumen en forma de tabla (Tabla 1) de los criterios de elección del modelo experimental propuestos por Svendsen y Hau (1994) extraída de Montero et al. (2008) que puede ser de utilidad para los primeros pasos en la elección de un modelo que se ajuste a los requerimientos de nuestra investigación. Siguiendo los pasos que se muestran en la tabla, podemos llevar a una conclusión fiable sobre si el modelo animal elegido es legítimo y válido, aunque no se deben desestimar las peculiaridades de cada caso,

ya que en cada investigación las características varían y un mal razonamiento de base puede llevar a un uso erróneo de los animales y a una mala práctica en general.

3.- El procedimiento de experimentación

La primera instalación destinada a la cría de ratas albinas se crea en Alemania en torno al año 1877, aunque en EEUU esto se retrasó una década, momento en el cual el profesor procedente de Suiza Adolf Meyer se llevó consigo cuatro ejemplares de rata albina de la Universidad de Ginebra, concretamente del Departamento de Zoología, para destinarlas al Instituto de Neurología de Nueva York y comenzar así un hito en las investigaciones. De esta colonia establecida en Nueva York fue de la que otro investigador, Henry Herbert Donaldson, requirió cuatro parejas de ratas para el instituto Wistar de Philadelphia, que tiempo más tarde daría nombre a la famosa cepa de ratas Wistar utilizada ampliamente hoy en día en todo tipo de investigaciones.

Con estos antecedentes llegamos al primer experimento conocido realizado en ratas Wistar, el cual versaba sobre neuroanatomía y fue realizado en 1890 por S. Hatai en el Departamento de Neurología de la Universidad de Chicago, del que también formaba parte el investigador Henry Donaldson (Rusell, 2013).

A partir de los primeros experimentos realizados en sujetos animales, usualmente ratones o ratas, se han obtenido innumerables beneficios para la humanidad, incluyendo cambios en la higiene, calidad de nutrición, tecnología de vacunas, además de numerosos avances terapéuticos de los que se han beneficiado tanto los humanos como los propios animales.

Llegados a este punto, es necesario distinguir entre un animal de laboratorio, que puede ser cualquier animal que sea sometido a condiciones controladas y utilizado para fines de investigación, y los reactivos biológicos, que son tipos de animales totalmente estandarizados. Las cepas consanguíneas de reactivos biológicos son los animales que son cruzados durante al menos veinte generaciones siguiendo un método consistente en cruzar hermanos con hermanas y eventualmente cría con progenitor, de forma que al final obtenemos una población que es casi idéntica a nivel genético. Los reactivos biológicos tienen por tanto un origen definido y han contado con todos los recursos para que se garantice su bienestar, desde aspectos sanitarios hasta técnicas de crianza y manejo adecuadas a su especie y circunstancias, lo que hace más sencilla la comparación entre investigadores de distintos centros (Hernández, 2006).

Para la obtención de animales biológicamente estandarizados, esto es, que sean uniformes genéticamente sin que se produzcan animales con algún tipo de daño, la población se somete a controles sanguíneos, nutricionales, epidemiológicos, fisiológicos y sanitarios, además de controlar la estandarización de otras variables ambientales, como las condiciones de luz, humedad, exposición a estímulos sonoros y dieta.

Los centros dedicados a la cría de animales destinados al proceso de investigación se llaman animalarios, bioterios, estabularios o más recientemente Servicios o Centros de Producción y/o Experimentación Animal (SPEA). Estos centros están sometidos a los más rigurosos métodos de contención y está categóricamente prohibida la entrada a personas y animales que no hayan pasado las medidas protocolarias de esterilización y tengan su correspondiente permiso de acceso o acreditación de trabajador.

Las funciones de los centros o servicios abarcan desde la propia producción de reactivos biológicos de alta calidad hasta el mantenimiento de cepas y animales que no son producidas en las propias instalaciones, pasando por el asesoramiento de investigadores en cuanto a las variables de los animales utilizados, como la elección del modelo, bienestar y salud en fase experimental, tamaño de la muestra o consultas bibliográficas relacionadas con el tema.

Gran parte de la importancia de la validez previa y de todos los controles que ha de superar cualquier investigación que pretenda usar animales (comités de ética, búsqueda de personal cualificado, asignación de instalaciones etc.) está asociada al valor económico que conlleva llevar adelante una investigación utilizando animales vivos. El coste que suponga mantener todo el protocolo de instalaciones, limpieza, sanidad y material va a marcar la diferencia en el tipo de investigación y el lugar donde se desarrolle. Esto es especialmente importante cuando la población que se está utilizando tiene algún tipo de modificación genética, ya que normalmente estos sujetos modificados tienen más susceptibilidad a sufrir algún tipo de enfermedad o proceso infeccioso debido a un mal acondicionamiento, y por esto requiere aún más gasto mantener la salubridad y la higiene de los animales en un estado impecable. También supone un gasto añadido para el centro el llevar a cabo métodos de reproducción y de cría mucho más complejos para obtener a los nuevos individuos modificados que servirán de sujetos experimentales en posteriores investigaciones (Cork et al., 1997).

Para intentar minimizar el riesgo de que los animales o reactivos biológicos sufran cualquier tipo de proceso patológico causado por agentes infecciosos, se han desarrollado cepas de animales con distintos tipos de modificaciones genéticas que facilitan el control del estado

sanitario de los sujetos. Un ejemplo de ello son los animales libres de gérmenes, que son criados sin tener ningún tipo de contacto bacteriano (individuos axénicos, o en inglés germ-free); los animales en condiciones de esterilidad que han sido expuestos sólo a microorganismos seleccionados (gnotobióticos) o los animales sin determinados agentes patógenos (heteroxénicos, o SPF, specific pathogen free) (Hernández, 2006).

En la primera parte del siglo XXI hemos experimentado una evolución del pensamiento general en investigación, pasando de concebir a los animales como un mero reactivo biológico que nos sirve de herramienta para lograr conocimientos a considerarlos casi como pacientes clínicos, con lo que esto ha conllevado en el cambio de trato que reciben los animales, mucho más individualizado frente al anterior que se daba al considerarlos una población en conjunto. Esto incluye una mayor preocupación por el bienestar del animal y la suposición de que se le debe causar el menos estrés y agravios, estando todo esto recogido en la legislación vigente en los distintos países y los Comités Éticos de Experimentación Animal.

Respecto a la investigación en neurociencia, es mucho lo que los animales han ayudado a conseguir en este campo tan complejo y que tanto impacto tiene en la actualidad. Así, por ejemplo, el estudio de las bases moleculares y celulares de las enfermedades neurodegenerativas como Parkinson o Alzheimer ha tenido un impacto en la sociedad actual como pocos avances, debido a que estas enfermedades requieren desarrollar terapias efectivas y conocer sus causas.

Tienen también especial importancia el estudio científico los mecanismos de regeneración celular o de reparación de tejido nervioso, así como los mecanismos de reinervación, los mecanismos del dolor y sus relaciones con la tolerancia a opiáceos, investigaciones que se ven enormemente facilitadas por el uso de los modelos animales. En relación a estos temas, un novedoso avance que supondrá un hito en la historia de la experimentación lo constituye el primer miembro cultivado a partir de células vivas. El científico Andy Coghlan (2015), en junio de este mismo año sorprendía al mundo revelando un procedimiento que había llevado a cabo en su laboratorio mediante el cual obtuvo con éxito un antebrazo de rata. Esto supone un gran avance, ya que hasta el momento los profesionales se enfrentaban a muchas complicaciones relacionadas con la implantación de prótesis que provocaban rechazo en el paciente, además del aspecto artificial de muchos de ellos. Esto no ocurre con el miembro que ha creado Coghlan, porque al tratarse de un cultivo de células del propio individuo no generará ningún tipo de problema autoinmune al implantarse en el paciente y su aspecto y

movilidad será mucho más natural. Este avance abre una nueva puerta en los procedimientos experimentales que tratan de hacer totalmente funcionales los miembros recreados mediante esta técnica, ya que todavía quedan por superar obstáculos relacionados con la regeneración del sistema nervioso y circulatorio al anexas el nuevo miembro al cuerpo del sujeto. Sin embargo, este nuevo paso en la ciencia hace suponer que los procedimientos de experimentación en el futuro serán mucho más sofisticados que los que conocemos hoy en día, y que se debe seguir trabajando con animales en los laboratorios con este fin.

4.- Generalidades sobre la rata Wistar como modelo animal

Las primeras ratas comenzaron a utilizarse a mediados del siglo XIX con una cepa que procedía de la rata salvaje noruega *Rattus norvegicus*, y a partir de este momento hasta la actualidad hay más de 50 cepas no consanguíneas y más de 400 cepas consanguíneas, y se sigue avanzando en la disección genética de rasgos complejos en ratas y ratones para obtener nuevas cepas a partir de las cepas clásicas que enfatizan las características deseables para la investigación y así facilitar el desarrollo del experimento (Kirby et al., 2010).

Las ratas son en muchas ocasiones el animal de elección por los investigadores debido a su mayor tamaño respecto al ratón, sumando el 22% del total de animales de laboratorio escogidos para las investigaciones. Estos animales se reproducen con facilidad, debido a las características de la rata hembra, que tiene un ciclo reproductor poliéstrico continuo de 4-5 días y alcanza la pubertad a los 70-80 días de vida, con un peso de 200 a 250g, y mantiene una capacidad de concebir unos 18-20 meses. La duración de la gestación es de 21-22 días, con camadas de 7-14 crías por parto (Montero et al., 2008).

Este ciclo reproductivo hace significativamente más rápida la obtención de nuevos individuos para fines científicos y facilita por tanto el proceso de investigación. Además de esta característica, las ratas Wistar tienen muchas singularidades que han de tenerse en cuenta para trabajar con ellas respetando sus condiciones de bienestar y así obtener resultados válidos en los experimentos.

Durante la realización de este TFG he tenido la oportunidad de tener contacto con un experimento con ratas Wistar realizado en la Universidad de Jaén, por lo que a continuación procederemos comentar algunas de sus características como especie.

4.1.- Características fisiológicas y anatómicas

La rata tiene una anatomía y fisiología muy parecida a la del ratón, salvando las distancias de naturaleza y tamaño. Concretamente, las ratas Wistar son albinas, con un pelaje denso totalmente blanco y unos característicos ojos rojos.

Presentan una visión muy reducida, con frecuencia son ciegas o tienen un rango de visión que apenas les permite diferenciar luces y sombras. Detrás del globo ocular poseen las glándulas de Harder, que en condiciones normales lubrican el ojo del animal y en condiciones de estrés o insalubridad segregan más de esta sustancia rojiza que se seca en la nariz y lagrimales de la rata y parece sangre. Es importante distinguir esta secreción marrón-rojiza de la sangre real mediante métodos como la luz ultravioleta para diferenciar un proceso patológico grave de la rata con un proceso de las glándulas de Harder asociadas al poco bienestar del animal, cosa que podría influir en el experimento y en las medidas que el animal produce (Montero et al., 2008).

Las ratas también son altamente sensibles al envenenamiento y a los tóxicos que ingieren, puesto que no pueden regurgitar ni vomitar nada de lo ingerido con anterioridad, así que es una importante característica a tener en cuenta.

4.2.-Iluminación

Los roedores son animales nocturnos con una gran capacidad de adaptación al medio, en un animalario con un ciclo de 12h de luz y 12h de oscuridad como el que existe en la Universidad de Jaén, el grupo experimental de ratas Wistar formado por individuos machos estaban más activos durante el período de oscuridad.

Al tratarse de una raza albina, son muy sensibles a las condiciones de luz a las que son sometidos, y no se recomienda que estas condiciones superen los 60 lux. Son especialmente sensibles a las variaciones lumínicas en términos de color, intensidad y periodicidad y un leve cambio en estos parámetros puede conllevar alteraciones motoras, gastrointestinales o incluso ocasionarles problemas en la retina (Montero et al., 2008).

4.3.-Temperatura y Humedad relativa

Los roedores son muy susceptibles a los cambios de temperatura, por lo que mantener estable esta variable se hace de suma importancia. Una pequeña alteración en la temperatura del animalario puede provocar cambios metabólicos en el animal, cambios en la actividad y la conducta emitida y por supuesto en los resultados experimentales.

Al carecer de glándulas sudoríparas y tener la superficie cubierta de pelo sufren mucho las altas temperaturas, y esto añadido a su incapacidad de jadeo puede conducir a la muerte súbita del animal si en el animalario se superan los 32°C. En cuanto a la ventilación, se encuentra que lo ideal es que la tasa se encuentre entre las 15-20 renovaciones por hora (Montero et al., 2008).

La humedad del ambiente puede ser muy perjudicial para los animales tanto por exceso como por defecto, sin mencionar que los olores fuertes o asociados a algún investigador pueden ser influyentes en la manera de responder de las ratas a la hora de realizar los ensayos pertinentes.

4.4.-Dieta

En el caso del experimento llevado a cabo en la Universidad de Jaén las ratas eran sometidas a condiciones de privación, por lo que los pellets que se les suministraban eran en función del peso que se registrara en el mismo día. El rango que se estableció era el 80-82% del peso de la rata con respecto a la condición de no-privación. Los pellets con que se alimentaban las ratas compensaban todas sus necesidades fisiológicas, por lo que las variaciones de peso siempre entraban dentro de las condiciones de respeto a la salud de los animales.

La restricción calórica ha demostrado ser muy beneficiosa para los roedores, y se ha encontrado que este procedimiento puede extender su vida en hasta un 50%, siendo menor el resultado cuanto mayor sea el animal al empezar la restricción. Este alargamiento de la vida se ha correspondido con una menor incidencia de ciertas enfermedades relacionadas con la edad de los roedores, como es el cáncer, las enfermedades de carácter autoinmune, los trastornos neurodegenerativos y cardiovasculares y la diabetes mellitus tipo II (Speakman, 2011).

En cuanto al líquido disponible, los animales tenían acceso a agua ilimitada todo el día, exceptuando los períodos de realización de ensayos experimentales. La falta de agua en roedores es muy aversiva, y su falta puede ocasionar la muerte del animal en 2-3 días, por lo que esta variable se mantuvo constante durante todo el experimento.

4.5.-Sonido

Es muy importante tener en cuenta los ruidos que se puedan producir en el lugar la hora de conseguir un animalario que respete las condiciones de vida de las ratas.

El oído de los roedores es extremadamente sensible, llegando a captar incluso los ultrasonidos (frecuencias menores de 80KHz). Por lo tanto, un espacio libre de contaminación acústica es imprescindible para estos animales si se quiere conseguir que estén en perfectas condiciones fisiológicas para la experimentación. Además de la intensidad del sonido hay que tener en cuenta la duración, las veces que ha sido expuesto el animal y el tipo de ruido, siendo los sonidos constantes y de baja frecuencia en general menos estresantes para el animal que los de alta frecuencia e intermitentes (Montero et al., 2008)

4.6.-Manejo

Las ratas son famosas por su docilidad a la hora de manejarlas, aunque a pesar de ello se recomienda no hacer movimientos bruscos para no dañar al animal.

Para sacar al animal de la jaula, se debe primeramente pasar una mano por debajo del vientre y levantarla suavemente, o si se prefiere se puede agarrar fuertemente de la base de la cola por poco tiempo, ya que si se suspende durante un largo rato el animal se puede lesionar al intentar éste girarse y lastimarse la piel del rabo en el punto de sujeción (Montero et al., 2008).

Un manejo irresponsable o negligente puede producir en los animales estrés o condiciones de insalubridad que, aparte de repercutir en la investigación, están penalizados legalmente y podría desembocar en la cancelación del proyecto o incluso la revisión laboral de las personas involucradas en él.

Además hemos de tener en cuenta que los principales factores ambientales que afectan a los animales en condiciones de laboratorio pueden ser de índole física o química, climáticos, de alojamiento, relativos a gentes patógenos y parásitos, relacionados con la dieta que sigan los animales o con la situación experimental a la que sean sometidos (Mrad de Osorio, 2006). Por lo tanto, mantener estas condiciones es imprescindible en cualquier centro de experimentación, y no se debe olvidar que a estos factores han de añadirse todos los relacionados con las condiciones de bienestar que el animal necesite en cualquier circunstancia.

La importancia de las variables ambientales radica en que cualquier cambio ambiental será registrado por los órganos sensoriales del animal, y estos mandarían una señal a su sistema nervioso. Si esta señal manda información relacionada con cambios perceptibles es bien seguro que el metabolismo y el sistema endocrino del animal se alterarán para compensar el balance percibido, y con esto el modelo animal se alterará produciendo cambios que se reflejarán en los datos finales y en la replicabilidad del experimento.

Todas las variables en la vida del animal tienen importancia, como por ejemplo la exposición a agentes infecciosos o sustancias químicas durante periodos más o menos extensos o las condiciones de alojamiento en las que ha vivido hasta el momento de llegar al laboratorio donde va a servir de sujeto experimental. Las condiciones en las que se han albergado los animales hasta el momento de su utilización son de especial consideración, puesto que algunas condiciones adversas pueden cambiar el comportamiento del animal e incluso sus características anatómicas y fisiológicas, y esto obviamente repercute posteriormente en los datos obtenidos.

5.- Ética en la investigación con modelos animales experimentales

Es de vital importancia aplicar la ética al uso de animales para el bienestar humano, ya que si no lo hacemos podemos incurrir en el error de “cosificar” al propio animal y hacer un uso inadecuado e irresponsable de él, como reza la frase en latín: Lo primero es no hacer daño *“PRIMUM NON NOCERE”*

Cuando el ser humano hace uso de los animales para su supervivencia no sólo lo hace a nivel de conocimiento como en el tema experimental que nos ocupa, sino también en aspectos de la vida como la alimentación y el vestido, por lo que hay que igualar en condiciones lo que pedimos de ellos y lo que damos a cambio. Por esto, los animales usados para investigación científica están protegidos tanto por la ley como por normas éticas, y en este apartado nos centraremos en las segundas.

El respeto y el movimiento cada vez más creciente de la preocupación por el trato dado a los animales en los laboratorios ya se vio reflejado hace casi 40 años, cuando los editores de las principales revistas biomédicas de la época acordaron en su primera reunión realizada en la ciudad de Vancouver en el año 1978 que los investigadores declarasen haber seguido las normas éticas y las leyes nacionales sobre el cuidado y uso de animales de laboratorio para

formar parte de los proyectos que ellos posteriormente respaldarían y difundirían en sus revistas (Mrad de Osorio, 2006).

De la misma forma, el rechazo de la sociedad hacia la realización de procedimientos poco regulados en animales viene dada desde hace más de 100 años, cuando los primeros movimientos de defensa de los animales comenzaron a hacer públicas acusaciones contra distintos centros que practicaban la vivisección. Tras varios años de polémica y de continuos ataques a la moralidad de los investigadores que trabajaban con animales, Frances Power Cobbe decidió dar un paso más en la defensa de los animales y fundó en Europa, concretamente en Inglaterra, la primera asociación que luchaba contra procedimientos tales como la disección anatómica, la inoculación en animales vivos de agentes patógenos como gérmenes, bacterias o virus y la administración de sustancias psicoactivas (Torres, 2000).

Como ya se ha comentado, desde hace años en las revistas de divulgación científica siempre se exige ante la presentación de cualquier estudio realizado en animales un documento firmado por los investigadores donde garantice que las pruebas realizadas en el sujeto animal han sido efectuadas respetando las normas internacionales existentes. Hoy en día este documento también certifica que previamente al inicio del estudio éste ha sido aprobado por un Comité ético formado por profesionales multidisciplinares de prestigio y ampliamente cualificados, el cual ha estudiado el caso en profundidad y ha dado la aprobación para que se lleve a cabo. La aprobación del Comité ético se obtiene tras considerar que el proyecto es de interés para algún aspecto de la vida sanitaria humana o animal, y que los investigadores involucrados tienen una cualificación específica para ello. Este Comité ético también revisa los métodos que se van a emplear en los animales, garantizando que se respeten las condiciones de bienestar y en caso de no considerarlos apropiados, impedir que dicha investigación se lleve a cabo.

Uno de los órganos de mayor importancia mundial en la ética del uso de animales en la ciencia es el CIOMS (Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas), una organización no gubernamental formada en el año 1949 por la Unesco y la OMS, que se dedicó a realizar unos principios éticos universales aplicables a cualquier investigación en la que se utilizaran animales, se ofrece a continuación un resumen de los mismos (Mrad de Osorio, 2006).

- Siempre que sea apropiado se deben utilizar métodos alternativos (Tres erres (3 R's),

referidas tres aspectos deseables en la experimentación: reducción, refinamiento y reemplazo de los animales de laboratorio en beneficio de otros métodos que no involucren animales vivos, un concepto que fue definido por Russel y Burch en 1959).

- Realizar la experimentación en animales siempre después de estudiar su relevancia para la salud humana y animal y para el avance del conocimiento biológico.
- Seleccionar animales de especie y calidad apropiadas. Usar el mínimo número de ejemplares requerido para obtener resultados válidos.
- Tratar a los animales con respeto y considerando siempre cuidado y uso adecuado, evitando o minimizando en la medida de lo posible las molestias, la angustia y el dolor ocasionados.
- Presumir siempre que los procedimientos dolorosos para el hombre también causarán dolor en otras especies vertebradas.
- Aquellos procedimientos que pueden causar dolor o angustia momentánea o mínima deben ser realizados con sedación, analgesia o anestesia. No realizar procedimientos quirúrgicos o dolorosos en animales no anestesiados o paralizados con agentes químicos.
- Cuando se requiere apartarse del principio anterior (no realizar procedimientos dolorosos en animales que puedan estar conscientes y en condiciones de sufrir dolor), la decisión debe ser tomada por un comité ético revisor convenientemente constituido. Estas excepciones no deben ser hechas sólo para demostración o enseñanza, sino en aquellos casos cuya finalidad científica esté demostrada y sea de la suficiente relevancia.
- Al final de la experiencia, o en el momento apropiado, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia, molestia o invalidez, que no puedan ser aliviados, deben ser sacrificados sin dolor mediante el procedimiento de eutanasia ajustado a la ley.
- Los animales mantenidos bajo las circunstancias del punto anterior para finalidades biomédicas, deben tener las mejores condiciones de vida posibles, de preferencia con supervisión de veterinarios con experiencia en ciencia de animales de laboratorio.
- El director del establecimiento es responsable por la calificación de los investigadores y demás personal, para realizar los trabajos requeridos, debiendo otorgar adecuadas oportunidades de entrenamiento.

Es de importancia destacar la importancia de las tres erres de la investigación con animales

que se ven en el primer punto de las normas éticas proporcionadas por el CIOISM, esto es, reemplazo, reducción y refinamiento.

Las famosas tres erres (3R) de la experimentación fueron diseñadas en 1959 por R. L. Burch y M. S. Rusell con el objetivo de dar un nuevo enfoque más humanista a la práctica científica basándose en el respeto a los animales y en el propio método científico, en el anexo 2 podemos encontrar una tabla (Tabla 2) que explica más detalladamente cada uno de estos tres conceptos. Sin embargo, este principio no tiene solamente una base política y social como se acusó en un primer momento, sino que sus beneficios también se reflejan en el ámbito científico. En mayo de 1995 se realizó una reunión de distintos científicos importantes de la época que tuvo como objeto determinar las bondades que aportaba la utilización del principio de las 3R a la ciencia y cuyas conclusiones desbarataron los argumentos sobre su posible base política y sentaba las bases de un nuevo enfoque científico para la utilización de animales en investigación (Goldberg, Zurlo & Rudacille, 1996).

Los métodos alternativos que permite la tecnología de hoy en día se basan en la utilización de complejos sistemas matemáticos, simuladores de ordenador o sistemas biológicos in vitro, que intentan reemplazar en cierta medida a la utilización de animales vivos. Si no fuera posible otro método alternativo, se pasaría a buscar la reducción del número de animales necesarios para llegar a una investigación con resultados interpretables, intentando siempre utilizar el mínimo posible de sujetos experimentales. En cuanto al refinamiento, consiste en amortiguar los daños que se le puedan producir al animal. Esto se consigue gracias a los analgésicos y los anestésicos, las reducciones de situaciones estresantes y el adecuado mantenimiento de los lugares donde se alojen los animales, la utilización de métodos no invasivos y la aplicación del protocolo de eutanasia en caso de que el sufrimiento del animal lo requiriese (Jar, 2014).

Hay muchas asociaciones de personas que luchan por el respeto a los animales y porque no se haga un uso indebido o injustificado de ellos, como por ejemplo PACMA en España, o Greenpeace a nivel internacional, que tratan de concienciar a la sociedad de los peligros que encierra olvidar que la vida animal debe ser respetada.

El debate social en curso sobre cuestiones éticas de la utilización de animales para fines científicos se relaciona a menudo con la experimentación con animales para pruebas de cosméticos y otros productos de higiene, un problema ético que está a la orden del día y se enfoca en la búsqueda de límites definidos en experimentación científica y en otros ámbitos

donde se utilicen animales. Los controles que se llevan a cabo actualmente para prevenir que las pruebas con animales sean innecesarias o pongan en riesgo el bienestar del animal sin un motivo de suficiente importancia son para muchos insuficientes, más aun cuando los rigurosos controles a los que son sometidos los diseños experimentales científicos antes incluso de llevarse a cabo no son los mismos que para otras industrias. Asimismo, esto viene dado por la creencia de algunas personas de que el examen realizado por los Comités de ética a menudo está influido por los conflictos de intereses de los propios miembros (Kolar, 2006).

En investigación, los animales de laboratorio son sometidos a todo tipo de controles para garantizar su validez en pruebas biomédicas o conductuales, y tienen un estricto registro genético estandarizado para cada cepa en concreto, con lo que las poblaciones siempre tienen un origen definido y una validez probada, evitando así la utilización de animales salvajes o no preparados y estandarizados para el uso científico, acción que la ley prohíbe tajantemente. La ética en el cuidado de los animales de laboratorio es también decisiva para la validez de la investigación que se esté realizando, y no podemos olvidar que desde el mismo momento del nacimiento del animal hay que tenerlo en condiciones óptimas y estandarizadas o la replicación del experimento no será posible.

Los animales han aportado innumerables avances a la vida de los humanos y hacemos uso de ellos cada día en muchos momentos de nuestra vida cotidiana, y estas aportaciones que ellos hacen deben ser recompensadas. La responsabilidad y el compromiso contraído para con los animales es inquebrantable para cualquier investigador, no debiendo olvidar nunca que sin los animales no podríamos crear y desarrollar las ciencias y las tecnologías que ayudan a que la sociedad humana avance, y por ello debemos respetar su vida, haciendo que sus condiciones sean las mejores y sin abusar nunca de las inmensas posibilidades que nos ofrece la experimentación con modelos animales.

Por suerte, en todas las universidades e instituciones oficiales cada vez se le da más importancia a la parte ética y moral relacionada con la investigación. Prueba de ello es la estatua erigida en el Instituto de Citología y Genética de Novosibirsk en Rusia que fue construida a modo de homenaje y reconocimiento del papel de los animales en los logros científicos obtenidos, concretamente los avances en cuanto al conocimiento sobre las bases genéticas y el ADN.

6.- Aspectos legales en España

En nuestro país la investigación con animales está regulada y cuenta con leyes específicas y reglamentos para el uso, manejo y experimentación ya sea con fines educativos o fines de investigación.

De las primeras leyes en interesarse por el bienestar de los animales utilizados en experimentación fue la Directiva 86/609 del Consejo de Europa y la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de 1986, donde se hace una aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. Esta directiva tuvo como fin integrar las leyes de los estados componentes de Europa con respecto a la experimentación en un marco conjunto para mejorar la calidad de las investigaciones, y desde su entrada en vigor se comenzó a tener un punto de vista más objetivo y cuidadoso con la vida de los animales de laboratorio.

Un hito en el derecho español sobre el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio lo encontramos en la Ley 32/2007, del 7 de Noviembre la cual proviene de la obligación impuesta por la Unión Europea en el artículo 55 del Reglamento (CE) nº 882/2004 de 29 de abril de 2004 para la alimentación y el artículo 25 del Reglamento (CE) nº 1/2005 del Consejo, de 22 de diciembre de 2004 sobre las normas durante el transporte, y además engloba otros muchos aspectos de bienestar animal deficitariamente regulados hasta este momento.

Se hace visible en el espectro de años existentes entre ambas leyes la poca importancia anteriormente dada a los animales de experimentación y la falta de reglas a las que atenerse a la hora de llevar a cabo una experimentación con animales, pero ha de decirse que actualmente este panorama ha cambiado mucho, y a partir de que la Unión Europea pidiera a todos los países que la forman que revisaran su ley en este aspecto se han creado otras, como el Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, que amplía la normativa existente para estos casos.

La Ley española 32/2007, del 7 de Noviembre se estructura en tres títulos, completados con una disposición adicional y seis disposiciones finales, el título preliminar se refiere al objeto de la ley, el cual es regular y sentar los cimientos de un régimen de protección animal y de infracciones y sanciones para garantizar el cumplimiento de las normas sobre protección animal en su explotación, transporte, sacrificio, y en nuestro tema, la experimentación.

En esta ley se incluyen aspectos sobre las inspecciones legales en centros de investigación, señalándose que se debe colaborar sin ninguna reserva y poner a disposición del agente inspector todos los datos que requiera respecto a las condiciones de los animales y el procedimiento experimental que se lleva a cabo con ellos.

En el capítulo II dedicado a las infracciones, podemos encontrar que se hace especial hincapié en aspectos de experimentación a la hora de que los animales salgan del centro experimental sin autorización escrita previa, considerándose una infracción muy grave al mismo nivel que la utilización de perros o gatos vagabundos en procedimientos, siendo sancionadas estas faltas muy graves con una multa de entre 6.001 euros y 100.000 euros, además de posibles clausura de centro, cese o interrupción de la actividad, decomiso de los animales y medidas generales de corrección para evitar que se siga causando daño.

Asimismo, son consideradas graves acciones tales como las mutilaciones no permitidas, mantener con vida un animal cuando la normativa aplicable no lo permita e incumplimiento del cuidado y manejo cuando produzca lesiones permanentes, deformaciones o defectos graves en el animal, y este grupo está sancionado con multas entre 601 euros y 6.000. Finalmente, se considera infracción leve abandonar al animal por falta de efectiva posesión y podría ser causa de apercibimiento o multa de no más de 600 euros.

Los órganos sancionadores involucrados en los juicios que competen a la experimentación son varios según la gravedad de la infracción, llegando a ser competencia directa del Consejo de Ministros si la sanción es calificada como muy grave.

En los casos en los que la vida del animal sufra riesgos, la ley dicta que se han de adoptar medidas provisionales para finalizar la situación de riesgo para el animal.

Las medidas provisionales no van encaminadas a corregir, sino a poner a salvo el animal hasta que se tomen las correspondientes medidas sancionadoras contra el centro o el investigador, e incluyen la incautación de animales, la no expedición de documentos necesarios para el traslado de los mismos y la inmediata suspensión y paralización de las actividades, medios de transporte o instalaciones que no cuenten con las autorizaciones y registros necesarios.

En la disposición final cuarta de esta misma Ley de noviembre de 2007, se incluye el reconocimiento de la formación de los investigadores de centros que utilicen animales para experimentación u otros fines científicos, y se especifica que el Ministerio de Educación y Ciencia estableció un plazo de dos meses desde la entrada en vigor de la ley para que los investigadores acrediten que poseen la formación y experiencia adecuados para trabajar con

animales, siendo la extensión concedida para la aplicación de este procedimiento de un año desde la entrada en vigor de la ley.

Todas estas medidas referidas a la protección de los animales destinados a la investigación se pueden considerar como un punto de partida en nuestro país para comenzar el proceso de regulación e impedir que se lleven a cabo imprudencias que puedan poner en riesgo el bienestar de los animales. A partir de ahí, se han añadido a estas normas otras muchas con el mismo fin: la protección animal y el sancionamiento de quienes no respeten el procedimiento experimental con modelos animales

El Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea dispone en su artículo 13 que todos los estados miembros deben tener en cuenta el bienestar de los animales cuando apliquen sus políticas de investigación, y más particularmente, el 22 de septiembre de 2010 el Consejo y el Parlamento de Europa pusieron en marcha la Directiva 2010/63/UE, que se refiere a la protección de los animales utilizados para los fines científicos, y por supuesto España también lo incorporó a su ordenamiento jurídico.

Esta ley consigue unir dos puntos clave en materia de investigación: el desarrollo de la ciencia y el bienestar animal. Para ello incluye medidas ampliadas para proteger ciertos animales, como los cefalópodos (conocidos por su gran intelecto), los animales asilvestrados y determinadas formas fetales de mamíferos, así como una especial prohibición que se puede encontrar en el artículo 21 de esta misma ley relativa a los primates no humanos, en la que se especifica que no se utilizarán en los procedimientos los animales de las especies Gorilla gorilla (gorila), Pan troglodytes (chimpancé), Pan paniscus (bonobo) y Pongo pygmaeus (orangután).

También se recogen detalladamente las condiciones en las que han de alojarse los animales, su transporte, la acreditación necesaria de los investigadores para trabajar con ellos y normas relativas a los límites de los proyectos y de los procedimientos. Pero lo más importante, establece como principio general que guía a la ley la imposición del “*principio de las tres erres*” que ya se comentó en el apartado anterior de este mismo trabajo. Este principio se basa en el *reemplazo*, el *refinamiento*, y la *reducción* de los procedimientos experimentales, promocionando el uso de métodos alternativos en lugar de la utilización de animales vivos, y por tanto, restringiendo su uso a fines en los que ya se hayan estudiado otras posibles formas que no involucren modelos animales.

Otro importante cambio es en lo relativo a la formación de una red de comités de bienestar y la creación de puntos de contacto nacionales para la coordinación de la implementación de las normas de protección y de las medidas alternativas a la experimentación animal, una nueva tendencia en desarrollo para evitar la utilización masiva de animales de laboratorio. La Comisión Europea, a través de la Recomendación 2007/526/CE, de 18 de junio de 2007, estableció las líneas principales relativas al alojamiento y al cuidado de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos que, por otra parte, se había adoptado en el ámbito del Consejo de Europa como Apéndice A del Convenio Europeo sobre la protección de los animales vertebrados utilizados con fines experimentales u otros fines científicos con anterioridad.

El Real Decreto español 53/2013, de 1 de febrero, es la ley más reciente vigente en nuestro país, y en ella se incluye la normativa por la que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. Esta ley hace hincapié principalmente en lo relativo al bienestar animal que ya se mencionó en el la ley de 2007 mediante el principio de las tres erres, reemplazo, reducción y refinamiento, que han de sentar las bases para cualquier tipo de experimentación animal.

El objetivo final es el total reemplazo de los métodos que incluyen la utilización de animales vivos en beneficio de otros métodos alternativos que incluyan otro tipo de técnicas. Con este mismo fin se establecen requisitos de revisión de los proyectos con animales con el fin de evitar duplicaciones innecesarias de experimentos ya realizados, siendo posible en ciertos casos incluso la revisión retrospectiva del proyecto una vez finalizado para determinar si los beneficios obtenidos son relevantes y si se cumplen todos y cada uno y de los requisitos de bienestar animal que requiere la especie utilizada, sus condiciones fisiológicas y su estado sanitario general. Esto es aún más severo para los casos que incluyen primates no humanos, en los cuales siempre se intenta reemplazar por todos los medios su utilización.

Entre los objetivos de la evaluación está el determinar si se han utilizado el número mínimo de animales necesarios para no comprometer la calidad de la investigación y si se han tenido en cuenta métodos alternativos disponibles a la utilización de animales vivos, todo ello enfocado siempre al bienestar animal. La puesta en común de órganos y tejidos de los animales experimentales está incluida dentro del marco de la colaboración, para que los profesionales puedan compartir información libremente acogiéndose a un programa para la creación de bases de datos.

También en esta ley se avanza en la línea de la homogenización de los requisitos necesarios para el investigador, de forma que la comunicación profesional entre los estados miembros de la Unión Europea sea más fluida y se den mayores oportunidades de investigaciones conjuntas. Esta igualdad de capacitación de los investigadores augura un buen futuro para la transparencia, de forma que nadie ajeno a las capacidades necesarias pueda trabajar con animales y así sea más sencillo preservar la seguridad y la integridad de los proyectos.

En esta reciente ley también aparecen unas definiciones del personal relacionado con el contacto con los animales para que se puedan identificar con claridad los papeles de todos los involucrados en el proceso, a continuación se citan algunos como ejemplo:

Centro o establecimiento: Toda instalación, edificio, grupo de edificios u otros locales e instalaciones móviles, incluidos aquellos no totalmente cerrados o cubiertos

Criador: Cualquier persona física o jurídica que críe animales de las especies incluidas en el anexo I con el fin de utilizarlos en procedimientos o para utilizar sus tejidos u órganos con fines científicos, así como cualquier persona que críe animales de otras especies principalmente con estos fines, con o sin ánimo de lucro.

Suministrador: Cualquier persona, distinta del criador, que adquiera o mantenga animales con el fin de que éstos se utilicen en procedimientos o de que sus tejidos u órganos se utilicen con fines científicos, y suministre dichos animales con alguno de estos fines, con o sin ánimo de lucro.

Usuario: Cualquier persona que utilice animales en procedimientos, con o sin ánimo de lucro.

Órgano competente: Los entes, autoridades o unidades administrativas de las comunidades autónomas y de las ciudades de Ceuta y Melilla competentes en cada una de las materias reguladas en este real decreto.

Órgano habilitado: Organismo público, o asociación o sociedad privada, autorizada y designada por el órgano competente para realizar algunas de las funciones específicas que se establecen en el presente real decreto.

Si surge alguna excepción de índole científica, de bienestar o de sanidad en el proceso de aprobación de un proyecto, es el órgano competente el que dicta la norma exclusiva para el caso y da su aprobación para que la ley sea un poco más flexible y también es el encargado de conceder la acreditación necesaria a criadores y suministradores. Estos, a su vez, tienen la obligación de renovar sus permisos cada diez años o cada vez que quieran criar, suministrar o utilizar con nuevas especies, debiendo hacérselo saber al órgano competente.

Cuando se detecta alguna irregularidad, se puede proceder a suspender o retirar una autorización, y el órgano competente se asegurará de que se tomen las medidas necesarias para que no se vea afectado negativamente el bienestar de los animales alojados en el establecimiento.

Por otra parte, el equipo de investigación debe estar formado por al menos un especialista responsable en bienestar de los animales, que será responsable in situ de la supervisión del bienestar y cuidado de los animales en el establecimiento. Además también es necesario un veterinario u otro especialista titulado equivalente con conocimiento y experiencia en medicina de animales de laboratorio, el cual tendrá, con independencia de las demás actividades que pueda desarrollar, funciones consultivas en relación con el estado de salud y tratamiento de los animales, y sus decisiones y opiniones profesionales deberán ser tomadas en consideración por el usuario, criador o suministrador y por el órgano encargado del bienestar animal.

También deben incluirse una o varias personas físicas que sean responsables in situ del cumplimiento de este real decreto, y en particular de que se hayan designado los especialistas responsables (de bienestar y veterinario), y que a su vez garanticen que el personal que se ocupa de los animales tiene acceso a la información específica sobre las especies alojadas en el establecimiento y, por último, que sean responsables de velar porque el personal esté adecuadamente formado, esté capacitado, tenga acceso a una formación continua, y que, mientras no haya demostrado tal capacitación, esté sometido a supervisión por personal capacitado.

Lo más importante es la elección del órgano encargado del bienestar animal (OEBA) cuyos miembros respetarán el principio de confidencialidad y se encargarán de todo lo relacionado con las condiciones de bienestar de los animales. El OEBA recibirá el asesoramiento del veterinario designado, debiéndose conservar durante al menos tres años las aportaciones que éste realice, y cuando el OEBA lo considere oportuno, solicitará el asesoramiento de expertos las cuales también respetarán el principio de confidencialidad.

Una misma persona podrá realizar varias o todas las funciones a las que se ha hecho referencia, siempre que reúna los distintos requisitos de capacitación para cada una de las tareas. La capacitación del personal podrá tener una estructura modular basada en guías, directrices o recomendaciones publicadas por la Unión Europea y los requisitos mínimos de formación previa o de otra índole se deben ver expresados en resultados de aprendizaje.

Cualquier modificación de los datos que figuren inscritos, debido a ampliaciones, reducciones, traslados, cambios del personal responsable u otras circunstancias, así como en el caso de suspensión o cese de la actividad, o de cambio de titularidad, deberá ser comunicada al órgano competente en el plazo máximo de un mes desde que se produzca la incidencia, para que se efectúe la correspondiente modificación en el registro.

Las categorías en las que se engloban los distintos trabajadores se describen en el anexo I del Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, donde se especifican las características de cada uno de los rangos del personal, y aquí se definen cuatro categorías profesionales, que se clasifican de la siguiente forma:

Personal de la categoría A: personal para el cuidado de los animales. Los programas de enseñanza para esta categoría incluirán como mínimo:

- 1.- Conceptos básicos relativos a los aspectos éticos y normativos de los cuidados proporcionados a los animales de experimentación.
- 2.- Manipulación correcta y mantenimiento ambiental de los animales:
 - a) Medio ambiente, equipos, jaulas y accesorios en las instalaciones para los animales: descripción, utilización y mantenimiento.
 - b) Manipulación y contención de los animales.
 - c) Conocimientos básicos sobre los métodos de eutanasia humanitaria de las especies afectadas.
 - d) Elementos generales de la fisiología y de los aspectos relacionados con el comportamiento de las especies animales utilizadas con fines experimentales.
 - e) Mantenimiento de los animales y, en los casos que sea necesario, cría de éstos.
 - f) Verificación de las condiciones medioambientales en los animalarios.
3. Reconocimiento del estado de salud general de los animales y de posibles enfermedades:
 - a) Higiene general y control de las enfermedades que se puedan encontrar en los animales.

b) Elementos de fisiología general y de comportamiento de las especies animales utilizadas con fines de investigación o experimentales.

4. Reconocimiento del dolor, el sufrimiento y la angustia que pueda surgir durante el proceso.
5. Normativa referente a la seguridad, la administración, el transporte, la recepción, el aprovisionamiento de animales y la eliminación de los cadáveres.
6. Formación específica, en caso necesario, para todo trabajo de asistencia durante los procedimientos.

Personal de la categoría B: personal que lleva a cabo los procedimientos. Los programas de enseñanza específicos para esta categoría de personal incluirán como mínimo:

1. Conocimientos básicos apropiados sobre el mantenimiento de los animales y acerca de la normativa sobre la seguridad, la administración, el transporte, la recepción y el aprovisionamiento de animales y la eliminación de los cadáveres.
2. Conceptos básicos relativos a los aspectos éticos y normativos actuales de los cuidados que han de ser proporcionados a los animales utilizados en la experimentación.
3. Manipulación y principios básicos del correcto mantenimiento de los animales:
 - a) Características biológicas, en particular, fisiológicas y del comportamiento, de las especies, razas y líneas de los animales, de acuerdo con las tareas que se vayan a cumplir.
 - b) Manipulación y contención de los animales durante el proceso experimental.
 - c) Métodos de eutanasia humanitaria de las especies afectadas que requieran de este procedimiento.
4. Reconocimiento del estado de salud y de las enfermedades: aspectos prácticos del seguimiento continuo del estado de salud y de las enfermedades.
5. Implicaciones surgidas del estatus microbiológico de los animales experimentales.
6. Reconocimiento del posible dolor, sufrimiento y la angustia ocasionados durante el proceso.
7. Formación apropiada para la realización de los procedimientos en la medida en que sea necesario para la realización de todas las tareas que se vayan a llevar a cabo:

- a) Apreciación de los elementos que se deben tener en cuenta desde la concepción de un procedimiento, incluyendo el refinamiento, la reducción y el reemplazo.
- b) Importancia del sistema de alojamiento y del ambiente inmediato de los animales para los procedimientos.
- c) Anatomía específica de los animales utilizados para fines experimentales.
- d) Anestesia, analgesia y apreciación de la necesidad de poner fin al procedimiento para reducir lo más posible el sufrimiento ocasionado al animal durante el proceso.
- e) Técnicas apropiadas e intervenciones quirúrgicas. El programa de formación del personal de categoría B debe tener un importante componente práctico, aspecto que se llevará a cabo bajo la supervisión de una persona con amplia experiencia en los aspectos estudiados.

Personal de la categoría C: personal responsable para dirigir o diseñar los procedimientos. Se considerará que los científicos responsables del diseño y de la dirección de procedimientos son suficientemente competentes para esta tarea cuando se cumplan las siguientes características:

1. Sean titulados superiores con nivel equivalente a una licenciatura en una disciplina como la Biología (animal), la Medicina, la Veterinaria u otra disciplina con formación adecuada en zoología, anatomía y fisiología del animal de laboratorio.
2. Hayan participado en un curso básico sobre la ciencia de los animales de laboratorio, con el fin de desarrollar un nivel de responsabilidad apropiado para un uso de los animales de acuerdo con las normas científicas de alto nivel, cuyo programa incluya como mínimo:
 - a) Aspectos con relación a los temas éticos correspondientes y conocimientos sobre la actual legislación.
 - b) Biología específica y mantenimiento completo de los animales de experimentación.
 - c) Microbiología y enfermedades relacionadas con los animales que se vayan a utilizar.
 - d) Conocimientos sobre el diseño de procedimientos experimentales con animales.
 - e) Conocimientos relativos a los procedimientos de anestesia, analgesia y experimentación.
 - f) Alternativas al uso de animales vivos, haciendo referencia al principio de reemplazo.

g) Análisis exhaustivo de la literatura científica apropiada en lo relativo a temas de experimentación.

Personal de la categoría D: personal especialista en ciencias del animal de experimentación con funciones de asesoramiento sobre el bienestar de los animales.

1. Personal especialista en bienestar animal: persona con titulación universitaria superior en el área de Ciencias de la Salud, encargada de supervisar y asesorar todos los aspectos relacionados con el bienestar de los animales.

2. Personal especialista en salud animal: persona licenciada en Veterinaria con formación complementaria especializada en animales de experimentación, encargada de supervisar y asesorar todos los aspectos relacionados con la salud de los animales

Cabe mencionar un artículo especial para los criadores de primates, el artículo 18 en la ley de 2013, en el que se establece que estos criadores deberán tener una estrategia para aumentar el porcentaje de animales que sean descendientes de primates criados en cautividad, para incentivar el uso de cepas criadas en cautividad y estandarizadas.

En cuanto a los métodos de eutanasia, en la ley encontramos un apartado propio, que establece claramente que se deberá realizar con el menor dolor, sufrimiento y angustia posibles, por una persona capacitada y en un establecimiento de un criador, suministrador o usuario, salvo que se trate de un estudio de campo o alguna otra excepción que también esté regulada.

Para que sea permitido el uso de otro método distinto a la eutanasia deben darse situaciones excepcionales, como que a partir de pruebas científicas se considere que el método posee al menos, la misma ausencia de crueldad; o que se demuestre científicamente que la finalidad del procedimiento no puede conseguirse utilizando ninguno de los métodos de eutanasia permitidos.

Tan pronto como se finalice el procedimiento se tomarán las medidas adecuadas para minimizar el sufrimiento del animal, de forma que la muerte del animal debe evitarse en lo posible y sustituirse por un criterio de finalización más humanitario. En caso de que no pueda evitarse la muerte como punto final, el procedimiento estará concebido de tal manera que muera el menor número de animales posible y que se reduzcan al

mínimo posible la duración e intensidad del sufrimiento del animal y, en la medida de lo posible, se garantice una muerte sin dolor.

La decisión sobre la posible eutanasia será tomada por un veterinario, pero en casos justificados de la imposibilidad de asistencia del veterinario esta importante decisión puede ser tomada por otra persona capacitada.

Siempre se deberá optar por la eutanasia de los animales cuando sea probable que vayan a padecer un nivel moderado o severo de dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero tras haber sido sometido a los distintos procedimientos. Cuando se vaya a conservar con vida a un animal, éste deberá recibir el cuidado y alojamiento acordes a su especie, condiciones fisiológicas y estado de salud.

Un animal que ya haya sido utilizado en uno o varios procedimientos, no deberá ser reutilizado en un nuevo procedimiento cuando en su lugar pudiera ser utilizado otro animal con el que aún no se hayan realizado procedimientos experimentales.

Este principio también tiene una serie de excepciones, y estos están relacionados con la experiencia previa del animal. Por tanto, se podrá utilizar el mismo animal cuando la severidad real de los procedimientos anteriores haya sido clasificada como «leve» o «moderada», de forma que el sufrimiento del animal haya sido mínimo, o en el caso de se haya demostrado la recuperación total del estado de salud general y de bienestar del animal. Por otra parte, también es adecuado utilizar el mismo animal para distintos procedimientos cuando el nuevo procedimiento se haya clasificado como leve, moderado o sin recuperación y siempre que cuente con asesoramiento veterinario favorable, realizado teniendo en cuenta las experiencias del animal a lo largo de toda su vida.

Cuando el animal haya terminado su aportación a la investigación, y siempre que no reúna los requisitos para su muerte, el órgano competente podrá autorizar que un animal pueda ser dado en adopción, realojado o devuelto a un hábitat, explotación u otro medio que sea adecuado para la especie de que se trate. Los animales que son reinsertados o adoptados deben contar con la seguridad de que los cuidadores tienen un programa de adaptación, de socialización con sus iguales y el medio, además de estar en un estado óptimo de salud y no suponer ningún peligro para el medio ambiente ni para las personas.

7.- Discusión

Como se ha comentado con anterioridad, el desarrollo de este TFG ha incluido una parte práctica en la que he trabajado con ratas Wistar en el Centro de Producción y Experimentación Animal de la Universidad de Jaén. Durante dicho experimento se realizaron toda una serie de controles de seguridad y bienestar animal paralelos al desarrollo de los resultados científicos. Los resultados obtenidos tras el análisis de los datos experimentales han sido validados gracias a que el protocolo a seguir con los animales ha sido entendido y respetado como una condición inherente al éxito de la propia investigación, contando con todos los profesionales que exige la ley para el cumplimiento de la actual normativa vigente.

A lo largo de este TFG se ha intentado hacer un resumen de todas las variables posibles que afectan al desarrollo de las investigaciones europeas y más concretamente españolas, relacionadas con el bienestar y el trato dado a los animales de experimentación. Estas variables están relacionadas con las condiciones ambientales que se exigen antes de comenzar con cualquier investigación tales como cría, suministro, alojamiento, transporte, alimentación etc., así como con cuestiones posteriores como la elección del modelo animal, el refinamiento del procedimiento, los profesionales que participan del proceso, las sanciones que conlleva no ajustarse a los protocolos de bienestar, y la decisión de mantener con vida o no a los animales experimentales tras el procedimiento, todo esto amparado por la ley y sujeto a unas estrictas condiciones para que no se viole ningún tipo de condición relacionada con la seguridad de los animales.

Así, esta revisión de distintos trabajos, publicaciones y leyes relacionadas con el trato dado a los animales de experimentación establece como conclusiones finales las siguientes:

- 1.- Que el bienestar de los animales utilizados en laboratorio es la máxima garantía de la fiabilidad y validez de una investigación científica.
- 2.- Que los procedimientos utilizados con animales en los laboratorios deben estar totalmente revisados y ajustados a la ley y la normativa relativa al tema de los mismos.
- 3.- Que los profesionales que trabajan con animales vivos en procesos de experimentación deben estar acreditados y superar las observaciones de los Comités de ética pertinentes.

De esta forma, se hace patente que las nuevas líneas de investigación con animales vivos en el futuro van a tender siempre a salvaguardar la integridad y la sanidad de los propios animales

utilizados, puesto que esta es la única forma de que el proyecto sea fiable, replicable, ético y válido para otros profesionales.

8.-Anexos

ANEXO I. Tabla 1. Criterios de elección del modelo experimental.

<p><i>Tabla 1. Criterios de elección del modelo experimental.</i> <i>En la decisión de elección intervienen múltiples factores y cuestiones previas</i></p>
1.- ¿El problema es digno de investigar/resolver?
2.- <i>Si</i> ,.. ¿puede ser resuelto realmente de alguna forma?
3.- <i>Si</i> ,.. ¿puede desarrollarse un modelo humano?
4.- <i>No</i> ,.. ¿existe algún modelo animal adecuado?
5.- <i>Si</i> ,.. ¿Es apropiada la especie elegida para resolver el problema? ¿Existe algún estudio previo sin éxito, que demuestre que el modelo elegido es inadecuado? ¿Qué conclusiones se pueden obtener de la investigación fallida? ¿Pueden ser controladas las variaciones genéticas/ambientales? ¿Puede ser controlado el estado sanitario del modelo durante todo el estudio?
6.- La decisión de elección a favor del modelo, ¿Se basa sólo en argumentos científicos o se ha considerado: -capacidad del personal e instalaciones? -posibles restricciones financieras, legales o éticas? -disponibilidad y otros aspectos logísticos?
7. ¿Son las concentraciones y rutas metabólicas de la sustancia probada comparable en el modelo, frente al hombre?.... Si
ELECCIÓN CORRECTA

Anexo II. Tabla 2. Las tres erres: reemplazo, reducción y refinamiento

Tabla 2. Las tres erres: reemplazo, reducción y refinamiento		
<i>Refinamiento</i>	<i>Reducción</i>	<i>Reemplazo</i>
<p>El refinamiento del proceso experimental tiene como objetivo reducir el dolor o el malestar que se pueda causar a los sujetos experimentales. Con este fin se utilizan ampliamente los anestésicos y analgésicos, pero también se incluye tener a los animales en estabularios apropiados que garanticen su bienestar. La correcta supervisión sanitaria de los animales permite detectar cualquier posible causa de malestar en el animal para paliarla, y en el caso de que sea necesario realizar en el animal el proceso de eutanasia.</p>	<p>Reducir el número de animales utilizados lo suficiente como para no perjudicar el análisis de los datos. Una buena elección de modelo, el uso de reactivos biológicos específicos y un exhaustivo análisis previo de la situación y los experimentos ya realizados relacionados con el proyecto minimizan los sujetos que han de ser utilizados en el experimento, algo a todas luces deseable.</p>	<p>El reemplazo busca la erradicación total de los métodos que utilicen animales en favor de otros métodos llamados alternativos. El procedimiento de reemplazo comienza por la utilización de técnicas en animales vivos pero anestesiados (nunca paralizados por fármacos que preservan la consciencia del animal), sistemas <i>in vitro</i> o en partes de animales. Más recientemente este concepto avanza hacia el desarrollo de sistemas informáticos que permitan no utilizar ningún tipo de sistema orgánico.</p>

9.-Bibliografía

- Bowd, A. D. (1990). A decade of debate on animal research in psychology: Room for consensus? *Canadian Psychology/Psychologie Canadienne*, 31(1), 74-82.
- Coghlan, A. (2015). Growth of the world's first biolimb. *New Scientist*, 226(8), 8-9.
- Conesa, P. & Brugger, A. (1998). Historia de los modelos experimentales en psicofarmacología. En D. Barcia (Ed.), *Historia de la Psicofarmacología* (pp. 509-620). Madrid: You & Us.
- Cork, L. C., Clarkson, T. B., Jacoby, R. O., Gaertner, D. J., Leary, S. L., Linn, J. M., Pakes, S. P., Ringler, D. H., Strandberg, J. D. & Swindle, M. M. (1997). The costs of animal research: Origins and options. *Science*, 276(5313), 758-9.
- España. Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. *Boletín Oficial del Estado*, 8 de noviembre de 2007, núm. 268, pp. 45914-45920.
- España. Ley 06/2013, de 11 de junio, de modificación de la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. *Boletín Oficial del Estado*, 12 de junio de 2013, núm. 140, pp. 44289-44292.
- España. Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia. *Boletín Oficial del Estado*, 8 de febrero de 2013, núm. 34, pp. 11370-11421.
- Goldberg, A. M., Zurlo, J., & Rudacille, D. (1996). The three r's and biomedical research. *Science*, 272(5267), 1403.
- Hernández, S. (2006). El modelo animal en investigaciones biomédicas. *Biomedicina*, 2(3), 252-256.
- Jar, A. M. (2014). Bienestar animal y el uso de animales de laboratorio en la experimentación científica. *Revista argentina de microbiología*, 46(2), 77-79.
- Kirby, A., Kang, H. M., Wade, C. M., Cotsapas, C., Kostem, E., Han, B., Furlotte, N., Kang, E. Y., Rivas, M., Bogue, M. A., Frazer, K. A., Johnson F. M., Beilharz E. J., Cox, D.

- R., Eskin, E. & Daly, M. J. (2010). Fine mapping in 94 inbred mouse strains using a high-density haplotype resource. *Genetics*, 185(3), 1081-95.
- Kolar, R. (2006). Animal experimentation. *Science and Engineering Ethics*, 12(1), 111-22.
- Lefor, A. T. (2005). Scientific misconduct and unethical human experimentation: Historic parallels and moral implications. *Nutrition*, 21(7), 878-82.
- Mah, L., Arnold, M. C., & Grafman, J. (2004). Impairment of social perception associated with lesions of the prefrontal cortex. *The American Journal of Psychiatry*, 161(7), 1247-55.
- McCarty, R., & Schneiderman, N. (1988). Animal behavior models in health psychology research. *Health Psychology*, 7(2), 111-112.
- McKinney, W. T. (1988). *Models of mental disorders*. Springer Science & Business Media.
- Michael, A. F. (2000). The case against animal experimentation: Comments on dunayer's "in the name of science". *Organization & Environment*, 13(4), 463-467
- Montero, J. L., Tur, J. A., & Romero, A. (2008). Bloque B. Biología Básica y mantenimiento del animal de experimentación. En Zúñiga, J.M., Tur J.A. & Orellana, J. M., (Eds.), *Ciencia y Tecnología del animal de Laboratorio* (pp. 79-209). Alcalá, España: Secal.
- Morales, P. (2003). Validez: aspectos conceptuales. In P. Morales Vallejo (Ed.), *Medición de actitudes en psicología y educación: Construcción de escalas y problemas metodológicos* (3rd ed., pp. 425-456). Madrid, España: Universidad Pontificia Comillas.
- Mrad de Osorio, A. (2014). 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), 163-183.
- Russell, J. L. (2013). Chapter I. Historical Foundation. In J. L. Russell, H. J. Baker, & S. H. Wesibroth (Eds.), *The Laboratory Rat: Biology and Diseases*, (pp. 2-33). New York, New York: Academic Press.
- Smith, R. (2001). Animal research: The need for a middle ground. *British Medical Journal*, 322(7281), 248-9.

Speakman, J. R., & Mitchell, S. E. (2011). Caloric restriction. *Molecular aspects of medicine*, 32(3), 159-221.

Torres, F. S. (2000). Ética e investigación biomédica. *Nómadas*, (13), 199-208.

van, d. S. (2006). Animal models of behavioral dysfunctions: Basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. *Brain Research Reviews*, 52(1), 131-159.

van, d. H., & van, d. V. (2008). Loneliness in infancy: Harry harlow, john bowlby and issues of separation. *Integrative Psychological & Behavioral Science*, 42(4), 325-335.