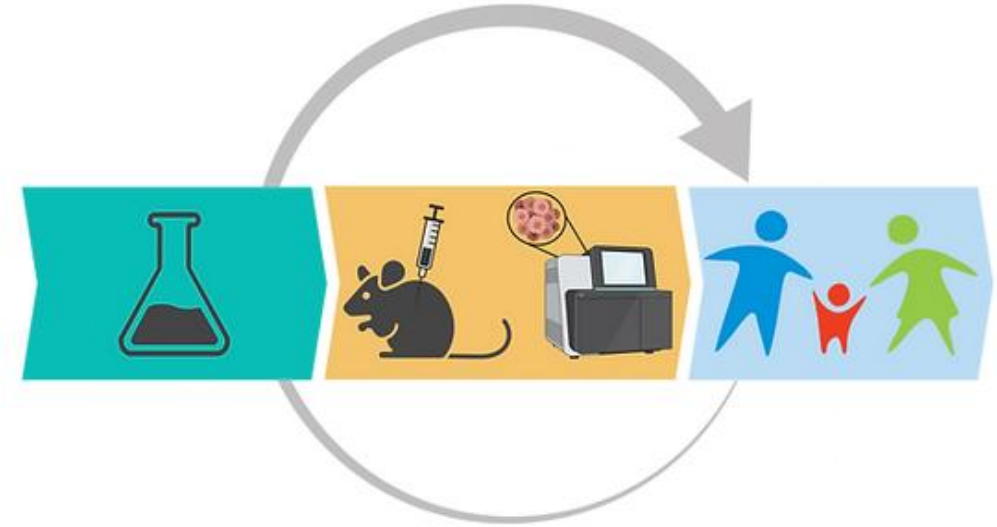
INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE DEZVOLTARE MEDICO-MILITARĂ „CANTACUZINO”

Cercetarea translațională și gradul de credibilitate al rezultatelor obținute în studiile pe animale



Simpozion de Bioetică

13 octombrie 2022

Ce procent din datele obținute într-un studiu pot fi transferate în clinică?

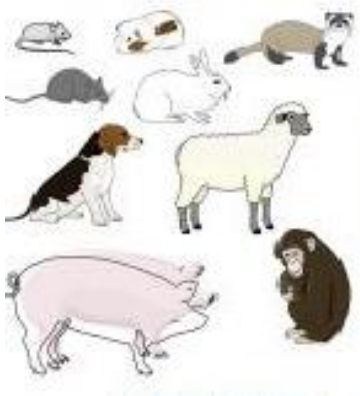
Animalele folosite în diverse studii și investigații sunt legate de evoluția istoriei umane.

- Aristotel
- Jean Baptiste Van Helmont
- Francesco Redi
- John Needham
- Lazzaro Spallanzani
- Lavoisier
- Pasteur

În același timp, fiziologia umană, anatomia, patologia, precum și farmacologia au fost, de asemenea, studiate folosind modele animale.

Animalele și oamenii sunt sisteme complexe, întotdeauna imprevizibile.

Asemănările anatomice și fiziologice remarcabile dintre oameni și animale, în special mamiferele, i-au determinat pe cercetători să investigheze o gamă largă de mecanisme și să evalueze noi terapii în modelele animale, înainte de a aplica descoperirile lor oamenilor.



Modelele animale utilizate în cercetarea biomedicală

Importanță în:

- dezvoltarea medicamentelor,
- dezvoltarea dispozitivelor medicale,
- ingineria țesuturilor,
- vindecarea rănilor,
- studiile de regenerare a oaselor și cartilajelor,
- ca model în intervențiile chirurgicale vasculare,
- grefe vasculare
- model pentru chirurgia de regenerare a discului vertebral.

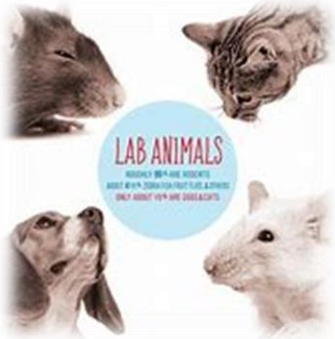
Selecția unui model animal în cercetarea biomedicală

- Reglementări etice și control public,
- Costuri și disponibilitate,
- Comparabilitate anatomică și fiziologică,
- Adaptabilitate la manipularea experimentală,
- Similitudine genetică,
- Fenotip comportamental,
- Rezistența la infecții și progresia bolii,
- Investigarea răspunsului spontan (natural) sau indus (experimental),
- Transferabilitatea informațiilor între specii.

Aspecte etice privind utilizarea animalelor

- legislația guvernamentală,
- opinia publică,
- poziția morală,
- căutarea unor alternative adecvate pentru cercetare.
- principiile 3R

Animal Lab



Semnificațiile și limitările biomedicale ale modelelor animale	
Modelul Șobolanilor (*Rattus norvegicus domestica*) și șoarecilor (*Mus musculus*)	Reproducere rapidă, manipulare facilă. Ele sunt în mare parte consangvinizate, deci nu au variații genetice ca un om, nu este un model potrivit pentru studiul inflamației.
Cobai (*Cavia porcellus)*	În cea mai mare parte outbred, potrivit pentru metabolismul colesterolului, modelul de astm, modelul de dezvoltare feto-placentară și parturiție, model pentru studiul bolii Alzheimer, cercetare tuberculozei sau a vaccinurilor. Limitări: Variații fenotipice ridicate; cercetarea Ebola la cobai este limitată din cauza potențialului infecțios slab al virusului.
Hamster (*Mesocricetus auretus*)	Excelent pentru cercetarea reproductivă, prezintă o caracteristică anatomică unică (spațiul subcutanat liber), importantă pentru studiile de micro-circulație, modelul cancerului, modelul de infecție pentru leptospiroză, studiile vaccinului.
Iepure (*Oryctolagus cuniculus*)	Model bun pentru osteoartrita indusă chirurgical, modelul de vindecare a rănilor, studiul medicamentului, modelul astmului, modelul colesterolului, modelul bolilor cardiovasculare, modelul bolii Alzheimer.

Ecvidee (*Equus*)	Important pentru studiul defectelor articulare, modele ortopedice, tendinopatii, model de astm, modele de reproducere. Dar, sunt necesare mai multe cheltuieli de îngrijire.
Bovine (*Bos taurus*)	Important pentru studiul modelului reproductiv feminin, probleme legate de sarcină, modele de tuberculoză. Dar, sunt necesare mai multe cheltuieli de îngrijire
Capră (*Capra hircus*)	Potențial pentru studii ortopedice, dispozitive mecanice de sustinere circulatorie, model pentru inversarea sexului de la feminin la masculin XX.
Oi (*Ovis aries*)	Ușor de manevrat, eșantionarea ușoară, natura fiziologică și anatomică sunt similare cu cele ale oamenilor, bune pentru modelul chirurgical pentru vindecarea oaselor și rănilor, modelul astmului, patologia cardiacă, dezvoltarea vaccinului.
Pisică (*Felis catus*)	Modele importante pentru astm, obezitate, diabet zaharat de tip 2, HIV, paralizie cerebrală.
Câine (*Canis familiaris*)	Narcolepsie, hemofilie B, sau boli ereditare, cancer, cercetare musculo-scheletice, etc
Porc (*Sus scrofa*)	Sunt specii mult asemănătoare cu fiziologia umană, importante pentru studiul cardiovascular, boala Alzheimer, ateroscleroza, diabetul zaharat de tip 2, cancerul de sân etc.

Animalele transgenice

- utilizarea rozătoarelor - utilă în înțelegerea funcției multor gene prin intermediul mutagenezei țintite.

- nu reflectă întotdeauna fidel situația pacientului și multe descoperiri științifice în modelele de rozătoare nu se traduc în situația clinică.

- porcul a devenit un model foarte bun pentru cercetarea biomedicală translațională.
- Animalele domestice modificate genetic sunt disponibile în prezent ca modele pentru diabet, fibroză chistică, boli cardiovasculare sau boli neurodegenerative.
- Alte domenii de utilizare: xenotransplant, bioreactoare pentru producerea de enzime, hormoni sau anticorpi.

Factori care influențează testele preclinice

1. eșantioane nereprezentative de animale

- *Standardizarea populațiilor de animale de laborator produc probe omogene care nu sunt extrapolate la populațiile umane eterogene.*
- *Condițiile de adăpostire ale animalelor în grupuri de același sex, fără activitate fizică, dietă și microclimat.*

2. incapacitatea modelelor animale de a imita complexitatea condițiilor umane.

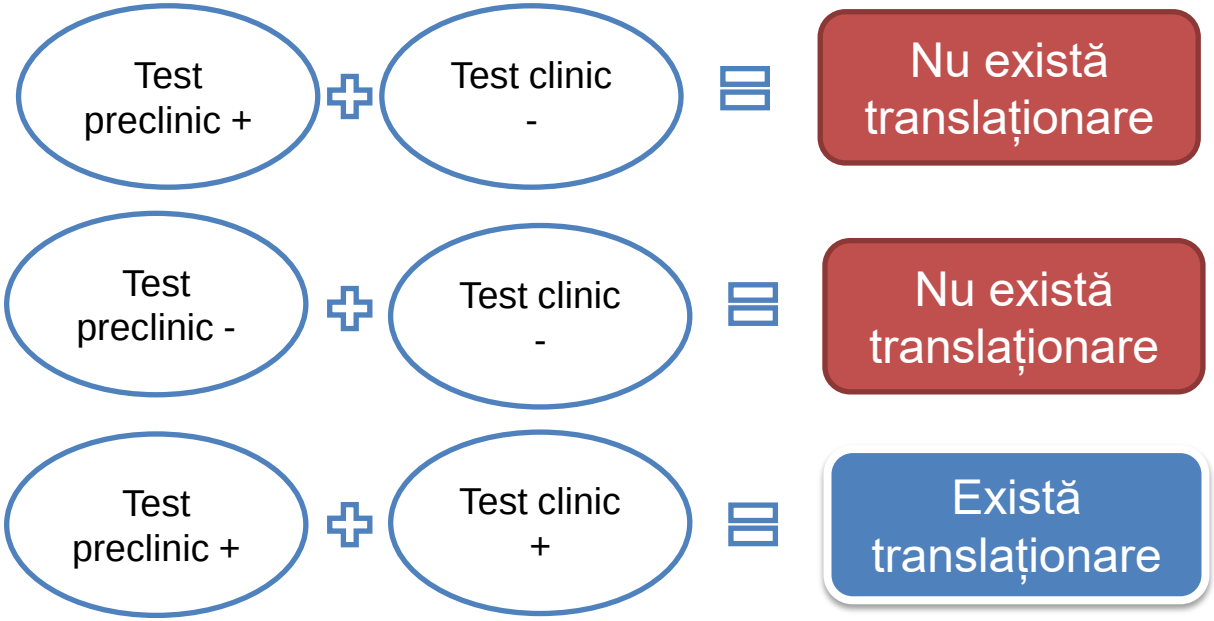
- *În cercetare preclinică sunt utilizate de obicei, animale tinere, sănătoase, în timp ce multe boli umane se manifestă la vârste înaintate.*

3. aplicabilitatea slabă a rezultatelor obținute pe animale în situația clinică

4. diferențele om-animal.

Eșecul preclinic

- eficacitatea (52%) și siguranța (24%) în studiile clinice.
- validitate externă = măsura în care rezultatele cercetării preclinice pot fi aplicate în mod fiabil omului ➡ criteriu cheie pentru verificarea credibilității cercetării științifice.



De ce nu există translație?

Afecțiune	Model animal	Om
Osteoartrita	Pentru studiu, se utilizează animale tinere, cu greutate normală. Sunt administrate tratamente profilactice sau în faze incipiente.	Studiile clinice se concentrează pe pacienții vârstnici cu obezitate. Tratament primit în stadii avansate ale bolii.
Accidentul vascular cerebral	Sunt utilizare animale tinere. Sunt testate substanțe medicamentoase specifice fără a ține cont de comorbidități (supraestimarea efectelor). Recuperare rapidă (zile sau săptămâni). Tirilazad – tratează cu succes dacă este administrat în timp de 10 min de la inducerea bolii.	Boală caracteristică oamenilor în vârstă. Frecvent, oamenii prezintă și hipertensiune arterială. Recuperare lentă (ani). Tirilazad – administrat la 5 ore post inducere, fără succes.
Cancerul de sân	Dezvoltare rapidă	Dezvoltare lentă, de obicei post-menopauză
Scleroza multiplă si boala Parkinson	Medicamente experimentale aplicate cu puțin timp înaintea exprimării tulburărilor neurologice.	Medicamente administrate după confirmarea bolii.

Succesul translațional = „gradul cantitativ de corespondență între rezultatele unui studiu pe oameni cu rezultatele experimentelor pe animale”

Succesul tranlațional în studiile de eficacitate

ID Studiu	Domeniul cercetării	Rezumatul descoperirilor
Briassoulis 2014	Septicemie	Studiile la animale arată efecte protectoare clare ale HSP72 în sepsis, studiile la om sunt neconcludente.
Brossi 2015	Ortopedie	Studiile ecvine privind eficacitatea plasmei bogate în trombocite arată în cea mai mare parte rezultate pozitive, studiile la om au rezultate variabile.
Corpet 2005	Oncologie	Riscurile relative după tratament au fost discordante pentru 2 din 11 compuși între șobolani - oameni și șoareci – oameni.
Steinberg 1987	Pancreatită	Cu aceleași 5 intervenții, 81% dintre studiile pe animale au avut un rezultat pozitiv și doar 7,7% dintre studiile pe oameni.
Sultan 2017	Cardiologie	Majoritatea datelor umane nu au arătat niciun efect al canabidiolului, în timp ce studiile pe animale au arătat.
Voskoglou-Nomikos 2003	Cancer	Niciuna dintre analizele primare nu a arătat o corelație semnificativă.

Succesul tranlațional în studiile de eficacitate

ID Studiu	Domeniul cercetării	Rezumatul descoperirilor
Whiteside 2008	Durere	Pentru tratamente eficiente pentru durere, corelația dintre dozele eficiente pentru om și șobolan este bună.
Yardley 2016	Abuzul de alcool	Din 49 de studii pe animale (pe 8 medicamente), 45 au arătat rezultate pozitive. Din 76 de studii pe oameni, 56 au arătat rezultate pozitive.
Faggion 2009A	Stomatologie	Reducerea adâncimii buzunarului și creșterea nivelului de atașament au fost similare pentru animale și oameni.
Valles 2018	Stomatologie	Rezultatele studiilor pe animale și pe oameni sunt concordante.
Yen 2014	Stomatologie	Modelele animale și rezultatele umane au arătat proporții de umplere osoasă similare.

Succesul translațional în studiile de toxicologie

ID Studiu	Domeniul cercetării	Rezumatul descoperirilor
Alden 2011	Carcinogenitate	Din 287 de medicamente înregistrate care au fost testate la șobolani și șoareci pentru carcinogenitate, rezultatele au fost concordante cu oamenii pentru 146.
Goodman 1991	Carcinogenitate	Pentru 18 din 20 de substanțe chimice examinate cu dovezi suficiente, dovezile umane și ale rozătoarelor sunt consecvente.
Wilbourn 1986	Carcinogenitate	Sensibilitatea pentru predictibilitatea animalelor pentru carcinogenitatea umană este mare (84%) și există o bună consistență între animale și oameni în organele țintă.
Hoffman 2018	Sensibilizarea pielii	Precizia generală în predicția sensibilizării pielii de la animal la om a fost de 74%, care a scăzut la 45% când se iau în considerare cinci categorii de potență
Fourches 2010A	Leziuni hepatice induse de medicamente	Concordanța efectelor hepatice între rozătoare și oameni (44%) și între speciile non-rozătoare și oameni (40%) a fost scăzută

Succesul translațional în studiile de toxicologie

Ratele de concordanță dintre toxicitatea animală și cea umană au fost de 71% atunci când au fost luate în considerare toate speciile, doar non-rozătoarele au fost predictive pentru 63% dintre cazuri și rozătoarele pentru 43% dintre evenimente.

Succesul translațional în farmacocinetică

ID Studiu	Domeniul cercetării	Rezumatul descoperirilor
Akabane 2010A	Biodisponibilitate absolută	Biodisponibilitatea la maimuțele Cynomolgus nu este adecvată pentru prezicerea farmacocineticii la om.
Bachmann 1996A	Volumul de distribuție	Volumul uman de distribuție și valorile timpului de înjumătățire pot fi prezise din datele obținute la șobolani.
Campbell 1994A	Clearance	Precizia predictivă pentru eliminarea medicamentelor de la șobolan, câine și maimuță este acceptabilă. Câinele este un predictor mai slab al clearance-ului decât șobolanul.
Chiou 1998A	Biodisponibilitate orală	Biodisponibilitatea orală se corelează între șobolani și oameni și, într-o oarecare măsură, între câini și oameni.

Succesul translațional în farmacocinetică

ID Studiu	Domeniul cercetării	Rezumatul descoperirilor
Chiou 2000a	Absorbție orală	O absorbție gastrointestinală similară poate fi obținută atunci când dozele la om (/kg greutate corporală) sunt de 5-7 ori mai mici decât la șobolani.
Fagerholm 1996	Permeabilitatea jejunală	Pentru compușii absorbiți pasiv, estimările permeabilității la șobolan pot fi utilizate pentru a prezice absorbția orală umană.
Fagerholm 2007a	Fracția excretată neschimbată	Din 25 de compuși, 11 au avut o fracție excretată neschimbată atât la oameni, cât și la șobolani. Pentru 9 din 14 compuși cu excreție renală la șobolani și oameni, calea principală de eliminare a fost diferită între specii. Constatările pentru comparațiile maimuță-om au fost aproximativ comparabile.
Fagerholm 2007b	Fracția nelegată în plasmă	Fracția nelegată în plasmă se corelează între șobolani și oameni.
El 1998A	Biodisponibilitate orală	La om și șobolan există în general o corelație bună pentru biodisponibilitatea orală, la om și câine nu există o corelație aparentă.

Succesul translațional în farmacocinetică

ID Studiu	Domeniul cercetării	Rezumatul descoperirilor
Lennernas 2007	Permeabilitatea jejunală	Un model de șobolan poate fi utilizat pentru a prezice absorbția medicamentului pe cale orală, dar nu metabolismul medicamentului sau biodisponibilitatea orală.
Ling 2009	Clearance	Clearance-ul uman ar putea fi prezis cu acuratețe din datele obținute la maimuțe.
Campbell 1994A	Clearance	Precizia predictivă pentru eliminarea de la șobolan, câine și maimuță este acceptabilă. Câinele este un predictor mai slab al clearance-ului decât șobolanul.
Mahmood 1996cA	Clearance, volumul de distribuție	Sunt necesare trei sau mai multe specii pentru o predicție fiabilă a eliminării, în timp ce volumul de distribuție este prezis la fel de bine folosind date de la două specii sau mai multe.
Mahmood 1999	Selectarea primei doze la om	Timpul de înjumătățire și greutatea corporală se corelează slab; greutatea corporală nu este utilă ca predictor.

Succesul translațional în farmacocinetică

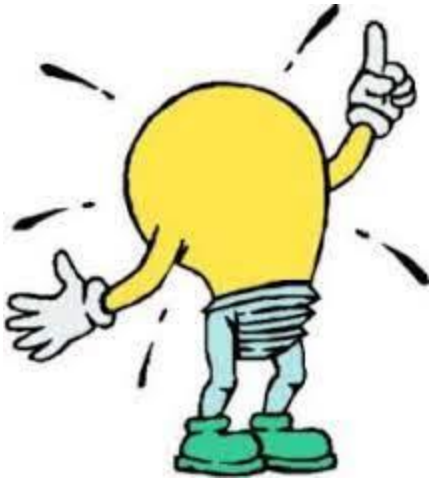
ID Studiu	Domeniul cercetării	Rezumatul descoperirilor
Mahmood 2003	Selectarea primei doze la om	Datele farmacocinetice la animale dintr-o doză care nu produce reacții adverse pot fi utilizate pentru a estima o doză inițială adecvată pentru om.
Mahmood 2012	Clearance, volumul de distribuție	Clearance-ul uman al medicamentelor care sunt excretate în bilă poate fi prezis cu o acuratețe rezonabilă din datele animalelor. Volumul de distribuție nu pare să fie afectat de excreția biliară.
Rocchetti 2007	Doza activă	Concentrațiile active terapeutic ale medicamentelor anticanceroase pot fi estimate din studii preclinice.
Whiteside 2010	Concentrație maximă	Modelele de șobolan pentru durere prezic niveluri eficiente de expunere la oameni. Concentrațiile plasmatice eficiente corespund, de asemenea.

Succesul translațional privind evenimentele adverse

- 70 % dintre evenimentele adverse umane au fost prezise de modele animale. Predictivitatea este mai mare pentru rozătoare (Claude, 2007)
- La orice specie testată, au fost prezise 71% dintre evenimentele adverse umane. Predictivitatea a fost cea mai mare pentru toxicitățile hematologice, cardiovasculare și gastrointestinale și cea mai scăzută pentru toxicitățile cutanate (Olson, 2000A).

- Pentru majoritatea sistemelor de organ, combinarea datelor obținute la câini și maimuțe reduce rezultatele fals negative pentru predicția evenimentelor adverse umane în ceea ce privește medicamentele anticancer (Schein, 1973a).
- Pentru prezicerea anumitor evenimente adverse la oameni, este necesară administrarea unor niveluri de doză foarte toxice la animale (Schein, 1970).
- 37% dintre reacțiile adverse la medicamente la oameni au fost prezise din studiile pe animale (Tamaki, 2013).

Concluzii



1. Animalele au contribuit în mod semnificativ la înțelegerea, prevenirea, atenuarea și gestionarea bolilor umane.
2. Pentru faptul că suntem organisme complexe, cercetătorii încearcă mereu o îmbunătățire a modelului animal care să reproducă fidel cauza cercetării, ca rezultatele obținute să fie translaționate omului.
3. Este necesară elaborarea de standarde și de bune practici pentru cercetarea translațională.
4. Procentul de predicții globale: 95% pentru șoarece, 85% pentru șobolan, 87% în cazul porcului, 74% la câine și 98% pentru maimuțe.
5. Niciun alt sistem sau tehnologie nu poate înlocui în totalitate un organism viu.

Bibliografie

- Perel, P., Roberts, I., Sena, E., Wheble, P., Briscoe, C., Sandercock, P., Macleod, M., Mignini, L. E., Jayaram, P., & Khan, K. S. (2007). Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: systematic review. *BMJ (Clinical research ed.)*, *334*(7586), 197. https://doi.org/10.1136/bmj.39048.407928.BE.
- Mukherjee, P., Roy, S., Ghosh, D., & Nandi, S. K. (2022). Role of animal models in biomedical research: a review. *Laboratory animal research*, *38*(1), 18. https://doi.org/10.1186/s42826-022-00128-1
- Barré-Sinoussi, F., & Montagutelli, X. (2015). Animal models are essential to biological research: issues and perspectives. *Future science OA*, *1*(4), FSO63. https://doi.org/10.4155/fso.15.63.
- Pound, P., & Ritskes-Hoitinga, M. (2018). Is it possible to overcome issues of external validity in preclinical animal research? Why most animal models are bound to fail. *Journal of translational medicine*, *16*(1), 304. https://doi.org/10.1186/s12967-018-1678-1
- Shanks, N., Greek, R., & Greek, J. (2009). Are animal models predictive for humans?. *Philosophy, ethics, and humanities in medicine : PEHM*, *4*, 2.
- Martić-Kehl, M. I., Schibli, R., & Schubiger, P. A. (2012). Can animal data predict human outcome? Problems and pitfalls of translational animal research. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *39*(9), 1492–1496. https://doi.org/10.1007/s00259-012-2175-z.
- Lapchak, P. A., & Zhang, J. H. (2018). Translational Stroke Research Guideline Projections: The 20/20 Standards. *Translational stroke research*, *9*(1), 9–12. https://doi.org/10.1007/s12975-017-0534-6.
- Sarkar I. N. (2010). Biomedical informatics and translational medicine. *Journal of translational medicine*, *8*, 22. https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-22.
- Macleod M. R. (2014). Preclinical research: Design animal studies better. *Nature*, *510*(7503), 35. https://doi.org/10.1038/510035a.
- van der Worp, H. B., & Macleod, M. R. (2011). Preclinical studies of human disease: time to take methodological quality seriously. *Journal of molecular and cellular cardiology*, *51*(4), 449–450. https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.04.008.

Vă mulțumesc pentru atenție!