

Resúmenes del V Congreso Latinoamericano de Métodos Alternativos al Uso de Animales de Experimentación (V COLAMA), Bogotá D.C., Colombia, septiembre 16 al 20 de 2024

Organizado por:

Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias
Asociación Colombiana para la Ciencia y Bienestar del Animal de Laboratorio (ACCBAL)
Pontificia Universidad Javeriana, Unidad de Biología Comparativa
Universidad de los Andes, AnimalCore
Universidad de La Salle, Observatorio Colombiano de Salud y Bienestar Animal (OCSBA)
Universidad CES, Unidad de Toxicidad In Vitro (UTi)
Federación de Sociedades Sudamericana de Ciencia en Animales de Laboratorio, (FESSACAL)
Centro Brasileiro para la Validación de Métodos Alternativos (BraCVAM)
Asociación Colombiana e Iberoamericana para la Ciencia del Bienestar Animal (ACICBA)
SafeLab (Colombia)

Comité Científico

Marcelo Asprea FESSACAL (Argentina)
Diego Garzón-Alvarado, Universidad Nacional de Colombia (Colombia)
Sylvia Pérez, CLAIM, (Argentina)
Octavio Presgrave, BraCVAM/FioCruz (Brasil)
María Constanza Lozano, Universidad Nacional de Colombia (Colombia)
Pilar Vinardell, Universidad de Barcelona (España)
María Laura Gutiérrez, CONICET (Argentina)

Ana Paula Arévalo, Instituto Pasteur (Uruguay)

Mathieu Vinken, Vrije Universiteit Brussel (Belgium)

Carolina Barbara de Oliveira, BraCVam/FioCruz (Brasil)

Héctor Alfonso Castro, Universidad de Zaragoza (España)

Manuel Góngora, Pontificia Universidad Javeriana (Colombia)

Claudio Gómez, Universidad Nacional de Colombia (Colombia)

Yoshie Hata, Universidad Nacional de Colombia (Colombia)

Keidy Vásquez, Universidad de los Andes (Colombia)

Alejandro Ramírez, Universidad de La Salle (Colombia)

Andrés Pareja, Universidad CES (Colombia)

Comité Organizador

María Constanza Lozano, Universidad Nacional de Colombia (Colombia)

Karen Corredor, ACCBAL (Colombia)

Manuel Góngora, Pontificia Universidad Javeriana (Colombia)

LItta Samari Perico Franco, Universidad Nacional de Colombia (Colombia)

Marcelo Asprea FESSACAL (Argentina)

Silvia Pérez, CLAIM, (Argentina)

Octavio Presgrave, BraCVAM/FioCruz (Brasil)

Keidy Vásquez, Universidad de los Andes (Colombia)

Alejandro Ramírez, Universidad de La Salle (Colombia)

Andrés Pareja, Universidad CES (Colombia)

María Camila Corredor, ACICBA (Colombia)

Ana Isabel Ramos Murillo, SafeLab (Colombia)

CONFERENCIAS PRINCIPALES

Diseño de programas de atención veterinaria siguiendo el modelo de AAALAC

Javier Guillén

AAALAC International. Correo electrónico: jguillen@aaalac.org

Resumen

El Programa de Atención Veterinaria según AAALAC International: La atención veterinaria es uno de los puntos fundamentales dentro del programa de cuidado y uso de los animales de una institución. Esta actividad se debe enmarcar dentro de un programa cohesionado de atención veterinaria, con la participación de diversos actores e incluyendo actividades concretas. El programa de atención veterinaria es una responsabilidad colectiva de la(s) persona(s) con autoridad en la institución, el/la responsable veterinario/a (responsable veterinario), y el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL). El responsable veterinario debe tener la autoridad y los recursos, otorgados por la dirección de la institución, para establecer un programa eficiente. Para lograrlo, también debe interactuar con los investigadores para conocer las necesidades y riesgos específicos derivados de los proyectos experimentales. La participación del responsable veterinario en el CICUAL es la manera más eficiente de asegurar la comunicación con el resto de actores implicados, que también incluye a los técnicos del bioterio. Por otra parte, la especialización en experimentación animal del responsable veterinario, y más concretamente en las especies utilizadas, es también necesaria para el éxito del programa. El programa de atención veterinaria no solamente consiste en atender animales enfermos, sino que incluye otras actividades como la opinión sobre aspectos de los proyectos experimentales que puedan afectar el bienestar y la salud animal; las instrucciones sobre pautas anestésicas y analgésicas, así como sobre manipulaciones y condiciones de estabulación de los animales; los cuidados perioperatorios; o el establecimiento de las condiciones sobre la potencial reutilización o adopción de animales ya utilizados. Esta presentación analizará todos estos aspectos de responsabilidad institucional, comunicación, y actividades necesarias para el establecimiento de un programa de atención veterinaria, incluyendo algunas preguntas que nos podemos hacer para evaluar si el resultado es satisfactorio (performance standards).

Derechos de los animales de investigación

Arthur Regis

Área de Derecho Animal Universidad de Brasilia, Comisión de Defensa de los Derechos de los Animales de la Sección del Distrito Federal del Colegio de Abogados de Brasil. Correo electrónico: prof.arthur.regis@gmail.com

Resumen

Un nuevo paradigma se ha presentado ante la sociedad global: el reconocimiento científico y legal de los animales como seres sensibles, sintientes o conscientes. Dando como resultado, incluso, una nueva área de conocimiento multidisciplinar: el Derecho Animal (basado en el reconocimiento de la dignidad intrínseca de los animales). Incluso cuando la población no puede percibirlos claramente, los problemas animales están estrechamente relacionados con la vida social cotidiana: elección de la dieta, vestimenta, actividades de entretenimiento, investigación científica etc. En este contexto, la nueva percepción de los animales también afectará a las ciencias de los animales de laboratorio, ya que el animal utilizado en la investigación y la enseñanza no puede verse como un insumo, sino como un ser vivo digno que se utiliza en contra de su voluntad para servir a los intereses humanos, y deben, como mínimo, ser tratados con respeto y debe garantizarse su bienestar. De esta percepción surgen varias obligaciones hacia estos seres vivos: necesidad de enriquecimiento ambiental, imposición de técnicas de eutanasia, establecimiento de un punto final humanitario etc. Es claro que los principios de sustitución, reducción y refinamiento (Russel & Burch, 1959), aunque válidos, ya no son suficientes para abordar la cuestión, requiriendo la aplicación de nuevos conceptos que se ajusten al paradigma de la dignidad animal. Los reflejos del reconocimiento de la dignidad animal se dan en las normativas de los países, como, por ejemplo, en la prohibición de probar productos cosméticos en animales: Ley 2.047/2020 de Colombia; Resolución Normativa CONCEA 58/2023 de Brasil; Ley 21.646/2024 de Chile. Otro elemento importante es el desarrollo de métodos alternativos, preservando animales que no han elegido vivir toda su vida en una jaula de laboratorio. Es necesario construir un futuro sostenible y más justo para todas las formas de vida.

Optimización ética en investigación: estrategias para integrar las 3Rs en experimentación animal

Maria Pilar Vinardell

Departamento de Bioquímica y Fisiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universitat de Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, España. Correo electrónico: mpvinardellmh@ub.edu

Resumen

El término 3Rs, acuñado por Russell y Burch en 1959, describe un enfoque integral para la optimización ética de la investigación que implica el Reemplazo, Reducción y Refinamiento de la experimentación con animales. Esto se orienta hacia la sustitución de los animales por métodos que no los empleen, la disminución del número de animales utilizados y la mejora de las técnicas experimentales para minimizar el sufrimiento de los mismos. Actualmente, la mayoría de las legislaciones incluyen disposiciones para la implementación de las 3Rs en investigación animal. Antes de llevar a cabo experimentos con animales, los investigadores deben buscar y considerar los métodos de reemplazo disponibles. Si no se pueden encontrar alternativas de reemplazo adecuadas para sustituir completamente o en parte el uso de animales, se debe priorizar la reducción y el refinamiento de los procedimientos experimentales. Sin embargo, la falta de conocimiento sobre las alternativas disponibles o la resistencia a su adopción pueden obstaculizar la aplicación de estas metodologías de reemplazo. Por lo tanto, es crucial realizar búsquedas sistemáticas y estar al tanto de diversas fuentes de información y estrategias de búsqueda. Los comités de ética de experimentación animal desempeñan un papel fundamental en la supervisión y garantía de la aplicación adecuada de las 3Rs por parte de los investigadores. Esta conferencia proporcionará una revisión de las bases de datos más adecuadas, así como de las estrategias recomendadas para identificar los métodos de reemplazo, reducción y refinamiento más apropiados para su implementación en la experimentación.

Criterios de cuidado y bienestar en la investigación con organismos acuáticos

Keidy Vasquez

Animal core, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: ky.vasquez@uniandes.edu.co

Resumen

La investigación con organismos acuáticos juega un papel crucial en diversos campos científicos, desde la biología marina hasta la ecotoxicología. Sin embargo, es fundamental abordar esta práctica con un enfoque ético y responsable que garantice el bienestar de los animales involucrados. En este contexto, la bioética, el bienestar animal y el refinamiento experimental se erigen como pilares fundamentales. La bioética proporciona un marco conceptual que permite evaluar los aspectos morales de la investigación con animales. Los principios bioéticos de beneficencia, no maleficencia, autonomía y justicia deben ser considerados al diseñar y llevar a cabo experimentos con organismos acuáticos. Esto implica buscar un equilibrio entre los beneficios potenciales de la investigación y el posible daño causado a los animales. El bienestar animal, por su parte, se centra en el estado físico y psicológico de los animales. En el caso de los organismos acuáticos, el bienestar se ve influenciado por factores como la calidad del agua, la disponibilidad de alimento, la densidad de población y la presencia de estímulos estresantes. Los investigadores deben tomar medidas para proporcionar un entorno lo más natural posible y evitando procedimientos dolorosos o innecesarios. El refinamiento experimental es una estrategia clave para mejorar el bienestar de los animales de laboratorio. Consiste en modificar los procedimientos experimentales para reducir al mínimo el estrés de los animales. Algunas técnicas de refinamiento incluyen el uso de anestésicos, analgésicos y sedantes, así como el desarrollo de métodos alternativos que no requieran el uso de animales. La cultura del cuidado es un aspecto esencial para promover el bienestar animal en la investigación. Implica la adopción de una actitud respetuosa hacia los animales y la sensibilización de los investigadores y técnicos sobre la importancia del bienestar animal. Además, es fundamental contar con protocolos y guías de buenas prácticas que establezcan los estándares mínimos para el cuidado de los organismos acuáticos en investigación. En conclusión, los criterios de cuidado y bienestar en la investigación con organismos acuáticos son fundamentales para garantizar la ética y la calidad de la investigación. La bioética, el bienestar animal, el refinamiento experimental y la cultura del cuidado son elementos interrelacionados que deben ser considerados de manera integral para promover el uso responsable de los animales en la ciencia.

Author Guide for Addressing Animal Methods Bias in Publishing

Bianca Marigliani

Humane Society International Research & Toxicology, Brazil. E-mail: bmarigliani@hsi.org

Summary

One of the biases that can affect the peer review of scientific articles is called animal method bias, which is the reviewer's preference for animal-based methods where they are not necessary or where non-animal methods may already be suitable. This preference, or the lack of expertise to properly evaluate non-animal methods, results in the unfair assessment of non-animal research and can lead to the request of additional (animal) experiments to "validate" non-animal data, which affects the likelihood and/or timeliness of acceptance for publication. A cross-sectional survey has recently shown that researchers have performed animal experiments for the sole purpose of anticipating reviewers' requests, and that the request to add animal experimental data is quite prevalent. A similar survey is being launched during COLAMA to assess the prevalence of animal methods bias in Latin-America. Aiming to help avoiding and overcoming this bias, the Coalition to Illuminate and Address Animal Method Bias (COLAAB) have developed a guide containing measures, resources, and tools for authors, including how to find and select appropriate non-animal methods and pre-register the research plan; tips for manuscript preparation and submission, including how to discuss methods, choose journals and reviewers; and suggestions for the peer review process, including language and literature to help authors in responding to biased reviews. The author's guide for addressing animal method bias in publishing is a living resource, available at animalmethodbias.org. Animal methods bias not only has ethical, time, and cost implications, but may also contribute to the lack of translatability of findings from animal studies to human health improvements. Its prevention requires systemic solutions, including the implementation of guidelines and bias training for researchers, funding agencies, editors and reviewers.

Modelos alternativos para entrenamientos quirúrgicos

Marcelo Asprea

Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: masprea@hotmail.com

Resumen

El uso de animales de laboratorio ha sido el gold standart para la capacitación de disciplinas como la cirugía, siendo un tema polémico que no se reduce al ámbito científico, teniendo implicancias legales, de objeción de conciencia e impacto en medios de comunicación y la opinión pública. El objetivo es demostrar cómo fueron modificándose los métodos de entrenamiento y capacitación a través de los años en un Hospital de Pediatría Público para alcanzar niveles de aprendizaje aceptables mediante alternativas como: uso de material inanimado, simulación, software, reutilización de cadáveres, conservación de tejidos e impresión 3D se desarrolló un programa de entrenamiento permanente comparando resultados de aprendizaje generados por los métodos alternativos se obtuvieron beneficios adicionales como ahorro de tiempo y costos, potencial mejorado para la parametrización y la repetición del ejercicio de aprendizaje, incremento de la confianza y satisfacción del cirujano, mayor cumplimiento con la legislación sobre el uso de animales, eliminación de las objeciones del uso de animales sacrificados con objetivos específicos y la integración de la perspectiva y ética clínica en las primeras etapas de instrucción de los cirujanos. La evidencia demuestra que los educadores pueden servir mejor a sus alumnos, y a la vez minimizar las cargas financieras y de tiempo, con la introducción de métodos de entrenamiento bien diseñados que no dependan del uso dañino de animales. La implementación en forma gradual de modelos de bajo costo y otros de alta tecnología hacen una combinación perfecta en las herramientas necesarias para llevar a cabo dicha tarea de entrenamiento y capacitación. Nos encontramos, por tanto, en un punto de inflexión. La Ciencia y la Sociedad está avanzando respecto a hace unos años, pero aún quedan muchos puntos por cubrir y muchos obstáculos por superar. Por ello, es importante que no cesen los esfuerzos por parte de la comunidad científica para que apoyen los métodos alternativos, para que se siga invirtiendo en su desarrollo e implementación en todos los ámbitos, ya que de este modo todos nos beneficiamos: los humanos porque desarrollaremos modelos más fiables) y los animales no humanos, porque evitaremos su sufrimiento innecesario.

Biomateriales y su impacto en la docencia universitaria

Juan Carlos Cruz Jiménez

Department of Biomedical Engineering, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: jc.cruz@uniandes.edu.co

Resumen

Los biomateriales están transformando la educación superior, particularmente en la ingeniería biomédica, al integrarse de manera efectiva en la formación académica y la investigación aplicada. A través de estrategias pedagógicas innovadoras como el aprendizaje basado en proyectos y la enseñanza invertida, los estudiantes desarrollan habilidades para resolver problemas complejos mediante la creación de soluciones prácticas, como nanovehículos para la administración dirigida de medicamentos y bioinks 3D para la regeneración de tejidos. Estas iniciativas no solo mejoran la comprensión teórica, sino que también fomentan el desarrollo de tecnologías alternativas que minimizan la dependencia de modelos animales, abordando cuestiones éticas y científicas contemporáneas. La implementación de simulaciones multifísicas y herramientas avanzadas como COMSOL ha potenciado la capacidad de los estudiantes para modelar y predecir el comportamiento de estos biomateriales en aplicaciones biomédicas, facilitando la transición del conocimiento teórico a su aplicación práctica. Este enfoque multidisciplinario no solo enriquece la experiencia educativa, sino que también posiciona a los estudiantes y futuros ingenieros biomédicos en la vanguardia de la innovación responsable, promoviendo un enfoque de la enseñanza que prioriza el desarrollo de tecnologías sostenibles y éticas. La sinergia entre la investigación en biomateriales y la docencia universitaria representa un cambio de paradigma en cómo se abordan los desafíos científicos y tecnológicos, proporcionando a los estudiantes las herramientas necesarias para liderar avances significativos en salud y tecnología. Así, la integración de los biomateriales en la docencia no solo impulsa la innovación académica, sino que también asegura que las nuevas generaciones de ingenieros estén equipadas para enfrentar los retos éticos y científicos del futuro, contribuyendo a un mundo más consciente y tecnológicamente avanzado.

Modelo biomecánico canino para entrenamiento

Lynda Tamayo-Arango ^{1*}, Sonia Orozco P. ², Diana A. Orrego-Metaute ³

¹ CIBAV Research Group, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Carrera 75 #65-87, Medellín, Antioquia, Colombia.

² OHVRI Research Group, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Carrera 75 #65-87, Medellín, Antioquia, Colombia.

³ Research Group and Biomedical Innovation, ITM Campus Robledo, CL 73 76A 354, 050034, Medellín, Antioquia, Colombia.

* Correo electrónico: lynda.tamayo@udea.edu.co

Resumen

La educación basada en simulación en las áreas de la salud permite la adquisición de habilidades y destrezas, tanto técnicas como no técnicas, en ambientes controlados. Esto favorece un aprendizaje efectivo ya que se aprende haciendo; además, se disminuye el riesgo de cometer errores cuando el profesional se vea enfrentado a casos reales. La resucitación cerebro-cardiopulmonar es una habilidad básica que todo médico veterinario recién graduado debe tener, para salvar la vida de pacientes en casos de urgencia. Por tal motivo, se formó un equipo de trabajo de ingenieros del Instituto Tecnológico Metropolitano (ITM) y médicos veterinarios de la Universidad de Antioquia (UdeA), para trabajar en la elaboración de un simulador para resucitación cerebro-cardiopulmonar, integrando técnicas de plastinación con dispositivos mecánicos para la simulación de diversas variables fisiológicas. Se obtuvo un simulador plastinado con alta fidelidad anatómica, con los siguientes parámetros: pulso femoral, presión arterial, registro de electrocardiografía, tiempo de llenado capilar, color de mucosa lingual, medición de oximetría y reflejo pupilar. Mediante una interfaz de control el profesor puede modificar los parámetros fisiológicos según el escenario de simulación elegido. Tiene una interfaz de visualización donde los estudiantes pueden ver los parámetros fisiológicos establecidos. Se realizó una validación técnica con médicos veterinarios del Hospital Veterinario de la Universidad de Antioquia, donde se evaluaron los parámetros en tres escenarios simulados: paciente normotenso, paciente hipotenso, paciente hipertenso y paciente sin signos vitales. El simulador obtuvo patente de invención de la Superintendencia de Industria y Comercio (Resolución No. 59195 de septiembre de 2023).

Modelos alternativos para entrenamientos en técnicas y prácticas veterinarias

Iván Martín

Programa de Medicina Veterinaria, Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.
Correo electrónico: emartin@unisalle.edu.co

Resumen

Desde comienzos de siglo, nuevas tendencias han generado un cambio en los modelos de enseñanza en las carreras envueltas dentro de las ciencias de la salud incluidas la medicina veterinaria, que ante el advenimiento de nuevos paradigmas éticos y morales en cuanto al aprendizaje de diversas técnicas médico-quirúrgicas que, en aquel entonces, implicaba la utilización de animales de laboratorio y otros modelos vivos de práctica. Muchos de estos procesos requieren para el afianzamiento de la técnica curvas de aprendizaje variables según la complejidad de la técnica y que ilustradas e implementadas en pacientes en los espacios clínicos - quirúrgicos podían incrementar los riesgos vitales inherentes a la realización del acto médico. Es por esto que aunque el uso de sistemas de simulación físicos o virtuales se ha incrementado, los costos de adquisición pueden llegar a ser una limitante en países en desarrollo al momento de implementar ejercicios de simulación clínica en los diferentes pensums académicos. Sin embargo existen herramientas de ingeniería como el diseño y la impresión 3D que implementados en el entorno médico han permitido incursionar en campos de modelado a partir, por ejemplo, de imágenes diagnósticas avanzadas. En la Universidad de la Salle hemos incursionado en la apropiación de dichas tecnologías para la fabricación de simuladores a pedido, con base a réplicas realistas y con diferentes niveles de sensibilidad háptica que cumplan con características específicas para la enseñanza en cátedras de cirugía, medicina y emergentología, así como su implementación en el área de preparación y planificación quirúrgica en la clínica veterinaria.

Propuesta de proyecto de ley que reglamenta las actividades de investigación, educación y estudios biológicos que involucran el uso de animales vivos

Andrea Padilla

Senado de la República de Colombia, Bogotá, Colombia.
Correo electrónico: andrea.padilla@senado.gov.co

Resumen

El proyecto de ley tiene por objeto regular las actividades de investigación científica, las pruebas de seguridad (testeo), los ensayos biológicos y las actividades de educación en las que se utilicen animales vivos vertebrados y cefalópodos, con el fin de garantizarles a los animales un trato respetuoso y digno, en razón de su sintiencia. Es de resaltar que, actualmente, Colombia cuenta con diferentes leyes y normas que reglamentan la investigación con animales vivos en el territorio nacional. Sin embargo, la falta de eficacia en la aplicación e implementación de este marco normativo es una constante, el poco liderazgo por parte del Gobierno Nacional, especialmente del Ministerio de Salud, según lo establecido en la Ley 84 de 1989, la desactualización normativa frente a los nuevos lineamientos internacionales sobre bienestar animal, y la ausencia de una reglamentación clara y precisa respecto a los requisitos que deben cumplir las instituciones o los investigadores para realizar investigaciones con animales vivos son algunas de las causas que hacen necesario que el Congreso de la República tome medidas para actualizar estos aspectos normativos. En ese sentido, el PL se basa en la implementación de las 3Rs, en la reglamentación de esta ley por parte del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, la creación y habilitación del Registro Único de Investigación con Animales Vivos vertebrados y cefalópodos -RUIAVVC, la creación del Comité Institucional del Cuidado y Uso de Animales -CICUA y crear estímulos, incentivos y facilidades para el fortalecimiento de las capacidades de los laboratorios e instituciones de investigación nacionales que implementen modelos alternativos para evitar el uso de animales vertebrados y cefalópodos en actividades de investigación, educación y ensayos biológicos. Finalmente, se busca imponer sanciones ambientales, penales o civiles según correspondan, conforme a la normatividad vigente, con el único fin de garantizarles a los animales un trato digno.

Estrategia para modernizar la investigación biomédica en Latinoamérica

Magnolia Martínez

People for the Ethical Treatment of Animals (PETA). Correo electrónico: MagnoliaM@peta.org

Resumen

La comunidad científica que reconoce el fracaso de los experimentos en animales es cada vez más grande. Este reconocimiento ha resultado en el desarrollo de métodos de investigación sin animales en múltiples áreas. Con esta transformación como contexto, el equipo científico de People for the Ethical Treatment of Animals (PETA) creó un plan para modernizar la investigación biomédica, que sugiere lo siguiente: a) poner fin al uso de animales en áreas en las que se ha demostrado que son “modelos” deficientes de los humanos; b) realizar reseñas científicas de la eficacia del uso de animales para identificar áreas adicionales en las que dicho uso podría eliminarse; c) redirigir los fondos al uso y desarrollo de métodos confiables sin animales; d) aplicar un sistema de análisis de daños y beneficios que incluya una perspectiva ética y la consideración del daño permanente que se inflige a los animales; e) promover la armonización y la aceptación internacional de métodos sin animales para pruebas de toxicidad; y, f) educar y capacitar a los grupos de investigación y a las agencias reguladoras sobre los beneficios y el uso de los métodos de experimentación sin animales. Independientemente del tamaño del presupuesto existente para investigación biomédica en las fuentes financiadoras y las universidades de América Latina, la asignación de dichos recursos a proyectos que usen métodos basados en la biología humana representa una inversión responsable. El equipo científico de PETA está a disposición de las instituciones y los grupos de investigación que deseen asesoría en la transición al uso de métodos sin animales.

Percepción social y prácticas de transparencia sobre el uso de animales en investigación, educación e industria

Manuel Góngora Medina

Unidad de Biología Comparativa, Pontificia Universidad Javeriana. Correo Electrónico: manuel.gongora@javeriana.edu.co

Resumen

El uso de animales como modelos de investigación es una práctica científica que genera tensiones sociales y bioéticas con márgenes diversos de aceptabilidad. Existen grupos que apoyan la investigación animal bajo el imperativo moral de curar enfermedades y salvar vidas, y opositores que centran su argumentación en el sufrimiento animal. Estas posiciones representan el 30% de la esfera social y para entender cuáles son las actitudes del público restante se han desarrollado investigaciones en diferentes entornos. Los resultados muestran que la aceptabilidad de usar animales en la ciencia es del 68 al 80% cuando se busca curar enfermedades, no existen métodos alternativos y se toman medidas para mitigar el sufrimiento. No obstante, el margen de aceptación disminuye entre las poblaciones más jóvenes. Las fuentes de información sobre el uso de animales de investigación son principalmente medios de comunicación (53%) y en menor medida canales oficiales (4%). Esto se relaciona con la preocupación que tienen la mayoría de los participantes (60%) sobre la falta de información en el desarrollo de métodos alternativos y las estrategias para mitigar el sufrimiento. El 82% de los individuos cree que las instituciones deben ser más transparentes y el 54% abogan por una democratización de la ciencia que favorezca la participación del público en la toma de decisiones. Los resultados de los estudios de percepción social muestran la importancia de desarrollar sistemas de transparencia institucional. Para ello, la adopción de acuerdos de transparencia que permitan la construcción de relaciones con el público es un requerimiento social. Europa (EARA), Oceanía y Canadá vienen adelantando mecanismos participativos y es fundamental que los países latinoamericanos adopten pautas similares.

Metodologías de reemplazo o Nuevas Aproximaciones Metodológicas (NAMs)

Las NAM en la evaluación del riesgo toxicológico

María Constanza Lozano Álvarez

Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Correo electrónico: mclozanoa@unal.edu.co

Resumen

La evaluación del riesgo toxicológico por muchos años tuvo un importante sustento en las pruebas *in vivo* que están dirigidas a valorar efectos adversos puntuales sobre los animales de experimentación. Esto dio lugar a protocolos de evaluación toxicológica (p.ej: irritación/corrosión ocular primaria, sensibilización dérmica, letalidad en la prueba de toxicidad aguda, entre otras) que se aplican a agentes químicos con los cuales el ser humano puede entrar en contacto. De esta manera, se definieron los peligros intrínsecos de muchas sustancias. Sin embargo, los cuestionamientos éticos asociados al uso de animales experimentales, las regulaciones que prohíben su uso, las controversias relacionadas con la escasa extrapolación entre especies y la disponibilidad tecnológica actual que permite valorar ampliamente cambios moleculares y celulares, han motivado un cambio en el paradigma construido en torno a la evaluación tradicional. Ahora, más que determinar una manifestación clínico-patológica en un animal, se dispone de herramientas que permiten valorar los mecanismos o vías que conducen a la toxicidad. El cambio en el modelo de evaluación se ha sustentado en los avances científicos que han permitido el surgimiento de pruebas que no emplean animales y que no simplemente duplican las existentes en estos, sino que suministran nuevas bases científicas para la evaluación de la seguridad. Surge así el concepto de las nuevas aproximaciones metodológicas (NAM), por primera vez empleado en 2018 por la EPA que incluye cualquier metodología, tecnología, enfoque o combinación de estos, que pueda ser usado para suministrar información del peligro químico y la evaluación de riesgo que evite el uso de animales completos. Las NAM pueden incluir métodos *in vitro*, *ex vivo*, *in chemico* e *in silico* así como la combinación de estos; actualmente existe disponibilidad de NAM validadas para valorar efectos locales tóxicos agudos con propósitos regulatorios. El empleo de estos nuevos enfoques metodológicos no solamente es útil para determinar efectos adversos también ha sido relevante en diversas investigaciones biomédicas.

Transición de cultivos 2D A 3D

Andrés Pareja López

Programa de Biología, Universidad CES, Medellín - Antioquia, Colombia. Correo electrónico: apareja@ces.edu.co

Resumen

La transición del cultivo de células en dos dimensiones (2D) a sistemas tridimensionales (3D), como esferoides y organoides, presenta múltiples desafíos técnicos significativos que deben abordarse para maximizar sus ventajas en la investigación biomédica. A diferencia de los cultivos 2D, donde las células crecen en una capa sobre una superficie plana con un acceso uniforme a nutrientes y oxígeno, los modelos 3D requieren optimizar el microambiente tridimensional para mantener la viabilidad, proliferación y diferenciación celular de forma adecuada. Esto implica diseñar matrices extracelulares, tanto sintéticas como naturales, que ofrezcan soporte estructural y señales bioquímicas y mecánicas apropiadas, un reto que demanda un profundo conocimiento de la biología de los tejidos y de los materiales biocompatibles. Otro desafío es el control de los gradientes de nutrientes, oxígeno y factores de crecimiento dentro de los cultivos 3D, ya que, a diferencia de los cultivos 2D, estos factores no se distribuyen homogéneamente, lo que puede provocar hipoxia y necrosis en los esferoides u organoides, complicando la interpretación de resultados experimentales; para ello, son necesarias técnicas avanzadas como la perfusión dinámica y la ingeniería de microfluidos. Además, se requiere desarrollar métodos específicos de caracterización y análisis, ya que las técnicas convencionales para cultivos 2D, como la microscopía de luz y los ensayos de viabilidad, son inadecuadas para abordar la complejidad de los modelos 3D, demandando tecnologías avanzadas y costosas, como la microscopía de sección óptica y la imagenología basada en inteligencia artificial. También, la reproducibilidad y escalabilidad de los cultivos 3D representan retos importantes debido a la variabilidad en tamaño, forma y composición celular, que dificultan su uso en estudios de alto rendimiento. Finalmente, la compatibilidad con herramientas de alta tecnología, como las técnicas ómicas y la edición genética, es crucial para integrar estos modelos en investigaciones avanzadas. Superar estos desafíos es esencial para realizar la transición a modelos tridimensionales más precisos, lo que aceleraría el desarrollo de terapias más efectivas y personalizadas.

Organoid intelligence

Thomas Hartung

Centers for Alternatives to Animal Testing (CAAT), Johns Hopkins University and University of Konstanz, Germany. E-mail: thartun1@jhu.edu

Summary

Understanding brain function remains challenging as work with human and animal models is complicated by compensatory mechanisms, while *in vitro* models have been too simple until now. With the advent of human stem cells and the bioengineering of brain microphysiological systems (MPS), understanding how both cognition and long-term memory arise is now coming into reach. We suggest combining cutting-edge AI with MPS research to spearhead organoid intelligence (OI) as synthetic biological intelligence. The vision is to realize cognitive functions in brain MPS and scale them to achieve relevant short- and long-term memory capabilities and basic information processing as the ultimate functional experimental models for neurodevelopment and neurological function and as cell-based assays for drug and chemical testing. By advancing the frontiers of biological computing, we aim to (a) create models of intelligence-in-a-dish to study the basis of human cognitive functions, (b) provide models to advance the search for toxicants contributing to neurological diseases and identify remedies for neurological maladies, and (c) achieve relevant biological computational capacities to complement traditional computing. Increased understanding of brain functionality, in some respects still superior to today's supercomputers, may allow to imitate this in neuromorphic computer architectures or might even open up biological computing to complement silicon computers. At the same time, this raises ethical questions such as where sentience and consciousness start and what the relationship between a stem cell donor and the respective OI system is. Such ethical discussions will be critical for the socially acceptable advance of brain organoid models of cognition. Based on the *Baltimore Declaration Toward Exploring Organoid Intelligence*, a community is forming to realize this vision.

Aplicación de sistemas microfluídicos como alternativa a la experimentación animal

Iñaki Ochoa

Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza, España. ' Correo electrónico: iochgar@unizar.es

Resumen

La investigación preclínica, tradicionalmente basada en modelos animales *in vivo* y en modelos *in vitro* de cultivos celulares bidimensionales, ha permitido generar múltiples avances en la biomedicina. Sin embargo, su capacidad predictiva de los resultados clínicos a veces se ha visto comprometida por las diferencias fisiológicas con los animales de experimentación o por la excesiva simplicidad de los modelos *in vitro*. Para avanzar en la mejora de los modelos preclínicos se han desarrollado nuevas herramientas como los modelos *in silico* basados en modelos computacionales o los modelos de cultivo celular tridimensionales. Estos últimos comprenden varios tipos de modelos entre los que destacan los esferoides/ organoides, la ingeniería de tejidos, los cultivos ex vivo o la tecnología Organ on Chip. Esta última se basa en el uso de dispositivos microfluídicos (conocidos como chips) para el cultivo celular *in vitro* avanzado. Gracias a la miniaturización y la recreación fidedigna de la organización de los tejidos en el interior de los chips se puede simular en el laboratorio el contexto biológico, químico y mecánico de las células dentro de los órganos y tejidos. Al imitar el microentorno celular (vascularización, estimulación mecánica y/o eléctrica, etc.), las células se comportan de una manera similar a cómo lo harían en los tejidos de los pacientes, ya sea en condiciones fisiológicas o patológicas. Además, es posible unir varios chips que contienen diferentes tipos de órganos y tejidos para generar sistemas más complejos creando lo que se denomina *body on chip*. Una de las principales ventajas de esta tecnología es la posibilidad de emplear células propias de los pacientes, como por ejemplo las células del sistema inmune o de los diferentes tejidos, avanzando así hacia modelos cada vez más personalizados.

Uso de herramientas *in silico* en toxicología

Lucía Toscano*, María Celeste del Fuego**

Application Scientists at Lhasa. *Correo electrónico: Lucia.Toscano@lhasalimited.org,

**Correo electrónico: Celeste.Delfuego@lhasalimited.org

Resumen

En los últimos años, se ha trabajado mucho para encontrar alternativas a los métodos tradicionales de experimentación con animales por razones éticas, económicas o científicas. En particular para garantizar la seguridad de los medicamentos, una alternativa es el uso de herramientas *in silico*. En línea con este propósito, el Consejo Internacional para la Armonización de Requerimientos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano (ICH, por sus siglas en inglés) creó la guía ICH M7. Esta fue desarrollada como respuesta a la preocupación por la presencia de impurezas potencialmente mutagénicas en productos químicos farmacéuticos y recomienda el uso de herramientas de predicción toxicológica *in-silico* complementarias para clasificar las impurezas genotóxicas: Una basada en reglas y otra basada en estadística. También sugiere estudiar los caminos de degradación relevantes para identificar no solo las impurezas reales, sino también las impurezas potenciales que pueden surgir durante el proceso de síntesis o debido a la interacción con excipientes. Lhasa Limited es una organización sin fines de lucro que ofrece soluciones de softwares para apoyar la toma de decisiones en seguridad química, minimizando la necesidad de realizar pruebas con animales. Actualmente, Lhasa cuenta con un amplio repertorio de herramientas que se pueden utilizar en distintos estadios del ciclo de vida de un producto farmacéutico. En esta presentación se mostrará la versatilidad y aplicabilidad de las soluciones *in silico* de Lhasa Zeneth, Derek Nexus y Sarah Nexus en un enfoque regulatorio aplicando la guía ICH M7.

ONTOX project

Mathieu Vinken

Vrije Universiteit Brussel, Belgium. E-mail: mathieu.vinken@vub.be

Summary

The 3Rs concept, calling for replacement, reduction and refinement of animal experimentation, is receiving increasing attention around the world, and has found its way to legislation, in particular in the European Union. This is aligned by continuing high-level efforts of the European Commission to support development and implementation of 3Rs methods. In this respect, the European project called “ONTOX: ontology-driven and artificial intelligence-based repeated dose toxicity testing of chemicals for next generation risk assessment” was initiated in 2021 with the goal to provide a functional and sustainable solution for advancing human risk assessment of chemicals without the use of animals in line with the principles of 21st century toxicity testing and next generation risk assessment. ONTOX will deliver a generic strategy to create new approach methodologies (NAMs) in order to predict systemic repeated dose toxicity effects that, upon combination with tailored exposure assessment, will enable human risk assessment. For proof-of-concept purposes, focus is put on NAMs addressing adversities in the liver, kidneys and developing brain induced by a variety of chemicals. The NAMs each consist of a computational system based on artificial intelligence and are fed by biological, toxicological, chemical and kinetic data. Data are consecutively integrated in physiological maps, quantitative adverse outcome pathway networks and ontology frameworks. Supported by artificial intelligence, data gaps are identified and are filled by targeted *in vitro* and *in silico* testing. ONTOX is anticipated to have a deep and long-lasting impact at many levels, in particular by consolidating Europe’s world-leading position regarding the development, exploitation, regulation and application of animal-free methods for human risk assessment of chemicals.

Rutas para evaluar la permeación cutánea utilizando el modelo experimental de piel humana nativa

Barbara de Freitas Carli

Grupo Kosmoscience. Correo electrónico: barbara@kosmoscience.com

Resumen

Los principios activos utilizados en el tratamiento de las dermatosis ejercen sus efectos biológicos en los tejidos más profundos de la piel. Para eso, deben poder atravesar el estrato córneo. Por otra parte, por razones de seguridad, la permeación de la piel es indeseable para sustancias como, por ejemplo, protectores solares y repelentes de insectos, que ejercen su efecto sólo en la superficie de la piel. El método estandarizado para evaluar la permeación de la piel se describe en la directriz del ensayo 428 de la OCDE y consiste en aplicar la sustancia en estudio, en la superficie de una piel humana acoplada al aparato de difusión de Franz. La permeación se puede evaluar analizando la presencia de la molécula objetivo en las diferentes capas de la piel, utilizando técnicas analíticas cuantitativas, como cromatografía, espectrometría de masas, ensayo inmunoenzimático, entre otras. Para ampliar y diversificar las pruebas de permeación cutánea, utilizamos la técnica de espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), basada en el principio de absorción de IR, característicos de la molécula objetivo. Esta técnica se presenta como una herramienta menos costosa y más rápida para mediciones cualitativas, donde el objetivo es evaluar si la molécula permea o no el estrato córneo, alcanzando la epidermis viable. Otro recurso disponible consiste en evaluar la permeación marcando la molécula con un fluoróforo. Con este recurso es posible visualizar la profundidad de permeación de la molécula y semi cuantificar la intensidad de fluorescencia de esta permeación. El uso de piel humana nativa ex vivo es una ruta experimental bien establecida en nuestro laboratorio, es una herramienta estándar de oro para predecir pruebas de permeación y otras relacionadas con la seguridad y eficacia de productos tópicos, ya sean cosméticos, farmacéuticos, sanitarios o otro, por representar fielmente la diversa fisiología de la piel humana.

Últimos Avances en Pruebas de Sensibilización Cutánea con Métodos sin uso de Animales

Argel Islas-Robles

Institute for In vitro Sciences, Inc. Gaithersburg, MD, USA.

Correo electrónico: aislas-robles@iivs.org

Resumen

Un sensibilizador cutáneo se refiere a una sustancia que lleva a una reacción alérgica después de estar en contacto con la piel en repetidas ocasiones. Las manifestaciones clínicas provocadas por estas sustancias están caracterizadas por urticaria, erupciones cutáneas y enrojecimiento de la piel, comúnmente denominado dermatitis de contacto atópica. La identificación de estos sensibilizadores es un importante criterio de valoración en el área de toxicología, y es requerido por las agencias regulatorias para garantizar la seguridad de los productos y químicos que están en contacto con la piel. Históricamente, las pruebas para identificar sensibilizadores cutáneos han sido basadas en métodos que usan animales como modelo de estudio, por ejemplo, el ensayo del nódulo linfático local (LLNA, en inglés), que se realiza en ratones. El uso de modelos animales en el contexto de sensibilización cutánea, además de generar preocupaciones éticas, ha demostrado tener una baja reproducibilidad y relevancia limitada con humanos. En las últimas décadas, métodos alternativos que no usan modelos animales han sido desarrollados basándose en el mecanismo celular y molecular de sensibilización cutánea en humanos. Estos incluyen una combinación de ensayos *in vitro*, *in chemico*, así como *in silico*. Varios de estos ensayos han pasado por una rigurosa validación y han sido adoptados por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), la cual ha publicado protocolos estandarizados para su uso regulatorio. En esta plática se presenta un análisis detallado sobre los métodos alternativos establecidos para la predicción de sensibilizadores cutáneos, las estrategias definidas para la identificación de estas sustancias, así como los avances biotecnológicos más importantes para el desarrollo de nuevos métodos.

Experiencia en el uso de alternativas para valorar agroquímicos

Laura Gutiérrez

Universidad de Buenos Aires, Investigadora adjunta Conicet.

Correo electrónico: mlgutierrezbal@gmail.com

Resumen

La racionalidad en el uso de animales de experimentación ha ido modelando las prácticas científicas para adecuarlas al principio de las 3Rs formulado por Russel y Burch en 1959. Pero desde finales del siglo pasado esta tendencia fue adquiriendo rango normativo aplicable al registro de productos que requieren de ensayos biológicos para la evaluación de su seguridad. Los ensayos de evaluación de toxicidad aguda forman parte del proceso de desarrollo, aprobación y registro de agroquímicos. Distintas organizaciones internacionales, tales como la EPA, la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), han elaborado guías detallando los datos que se exigen para el registro de plaguicidas. Los requisitos regulatorios globales para el registro de ingredientes activos y formulados, se conoce como *six-pack* y exige evaluar las siguientes seis toxicidades: toxicidad oral aguda, toxicidad inhalatoria aguda, toxicidad dermal aguda, irritación y corrosión ocular, irritación y corrosión dérmica, y sensibilización dérmica. Tradicionalmente estos ensayos son realizados en animales, sin embargo, existe una tendencia mundial hacia el uso de métodos alternativos y los organismos reguladores de plaguicidas la han adoptado. La toxicología convencional se basa en observar los efectos adversos en un animal como principal fuente de evidencia, pero la toxicología moderna busca determinar cuál es la combinación o secuencia más efectiva de métodos, basados en los mecanismos toxicológicos subyacentes que provoca una sustancia, mediante enfoques integrales para el testeo y evaluación (IATA). La combinación de métodos de un IATA puede ser estandarizada y ha sido nombrada como Enfoque Definido (DA). Un DA consiste en un procedimiento aplicado a datos generados por métodos no basados en animales con el propósito de generar una predicción. En esta presentación recorreremos las herramientas actuales disponibles aplicadas para la evaluación de toxicidad aguda de agroquímicos, sus limitaciones y sus ventajas.

An introduction to NGRA

Donna MacMillan

Director, Education and regulatory engagement – ICCS.

E-mail: dmacmillan@iccs-cosmetics.com

Summary

The International Collaboration on Cosmetics Safety (ICCS) is a global multi-stakeholder not-for-profit organization focused on advancing the adoption of animal-free assessments of cosmetics, and their ingredients, for human health and environmental safety. ICCS has a diverse cross-sectorial membership, including cosmetic product and ingredient manufacturers, cosmetic and chemical trade and research associations and non-governmental organizations (NGOs), who collaborate to increase the uptake and implementation of New Approach Methodologies (NAMs) and Next Generation Risk Assessment (NGRA) frameworks. The demand for non-animal safety assessments such as NGRA is increasing globally due to changes in societal attitudes, a need for better species relevance, and regulatory change. NGRA is defined as an exposure-led, hypothesis driven risk assessment approach that incorporates one or more NAMs to ensure that chemical exposures do not cause harm. The nine principles of NGRA have been described by the International Cooperation on Cosmetics Regulation (ICCR) and the application of NGRA described in a workflow developed by SEURAT-1, a European public-private research consortium working towards animal-free testing of chemicals. Despite this, many organizations and regulators have yet to adopt NGRA for safety assessment, and consequently, much work has been done to increase confidence in NGRA and provide examples of its application. To this end, many case studies on NGRA have been developed and published in peer-reviewed scientific journals or published by the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) Working Party for Hazard Assessment's Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) Case Studies Project.

AFSA Master Class in animal-free safety assessment of cosmetics and cosmetic ingredients

Bianca Marigliani

Humane Society International Research & Toxicology (HSI). E-mail: bmarigliani@hsi.org

Summary

Significant advances have been made over the last decade in science and regulations to end animal testing worldwide. Increasing confidence in non-animal methods is critical for promoting acceptance and use. Toward that aim, the Animal-Free Safety Assessment (AFSA) Collaboration – a global coalition of corporate, non-profit and science leaders - has developed a Master Class in animal-free risk assessment of cosmetics and cosmetic ingredients (chemicals). The AFSA Master Class is a free, in-depth, e-learning course based on the principles of Next-Generation Risk Assessment (NGRA), an exposure-led, hypothesis-driven risk assessment approach that integrates data from *in silico*, *in chemico* and *in vitro* approaches in a tiered framework for safety assessment for both internal company decision-making and regulatory safety assessments of products and ingredients. The tiered approach begins with assessment of exposure scenarios and existing or easily obtainable toxicity information and moves to more data-rich, time-intensive methods only if needed to fulfil the needs of the specific assessment. The problem-formulation based approach emphasizes the need to consider exposure at all assessment levels, and the evaluation of risk is based on a comparison of the likely exposure to the population of interest and the dose where toxicological response occurs. The overall goal of an NGRA is human safety, and the assessment is designed to prevent harm rather than predict specific toxicities. The AFSA Master Class modules comprise all steps of the NGRA: the framework, problem formulation, consumer exposure, predictive chemistry, exposure-based waiving, history of safe use, bioactivity (*in vitro* assay synthesis), internal exposure, and integration into risk assessment. A separate module discusses the global regulatory landscape for cosmetics and chemicals. AFSA invites all interested stakeholders to register and contribute to a more effective, efficient, and ethical safety paradigm for cosmetics and chemicals.

Education, training and application of non-animal methods (NAMs) in Latin America

Marize Campos Valadares

Universidade Federal de Goiás, Brazil. E-mail: Correo electrónico: marizeufg@gmail.com

Summary

The approval of Law No. 11,794/2008, known as the Arouca Law, was a milestone for regulating animal use in scientific experimentation and education in Brazil and Latin America. This law led to the creation of the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA), which oversees the introduction of alternatives to animal testing. In 2012, the Brazilian National Network of Alternative Methods (RENAMA) was established with 51 members. RENAMA focuses on developing, validating, training, and disseminating new approach methodologies (NAMs) to reduce dependence on external technology. In 2015, the Regional Platform of Alternative Methods to the Use of Animals (PReMASUR) was created, relying on RENAMA for education and training activities in Argentina, Brazil, Paraguay, and Uruguay. More recently, CONCEA No. 58/2023 imposed a partial ban on cosmetic testing on animals, prohibiting the use of vertebrate animals in the scientific research, development, and quality control of cosmetics. This presentation will highlight educational activities empowering innovators and regulators to apply modern research and regulatory assessment approaches. For example, the Laboratory of Education and Research in In Vitro Toxicology at the Federal University of Goiás, Brazil, has introduced new in vitro scientific concepts to hundreds of undergraduate and graduate students. Our team has trained professionals, scientists, and regulators from Brazil and other South American countries in non-animal methods through in-person lectures, networking opportunities, online webinars, and hands-on demos. By working cooperatively, we have demonstrated how non-animal safety science is best used to regulate the ethical use of chemicals, enabling sustainable innovation and ensuring human and environmental safety. We have focused on cross-sectoral collaboration with academia, industry, CROs, and regulators to advance knowledge of NAM-based chemical assessments throughout Brazil and Latin America, assisting researchers and communicating advanced NAMs to accelerate adoption and regulatory acceptance.

Capacity building as a strategic tool for strengthening national laboratory infrastructure in support of NAMs

Luciene Balottin

National Institute of Metrology, Quality and Technology (INMETRO), PReMASUR
(MERCOSUR's Regional Platform for Alternative Methods for Animal Experimentation).
E-mail: lbbalottin@inmetro.gov.br

Summary

The National Institute of Metrology, Quality, and Technology (Inmetro) is a unique institution due to its diverse activities in metrology, conformity assessment (e.g., accreditation, Good Laboratory Practice (GLP) authority), and consumer product regulation. Since 2012, Inmetro has served as one of three Central Laboratories of the National Network of Alternative Methods (Renama), a pivotal initiative by the Ministry of Science, Technology, and Innovation (MCTI), established to promote the implementation, dissemination, and validation of alternative methods to animal experimentation. The network currently includes 39 members from academia and the private sector. In 2015, MERCOSUR's regional platform for alternative methods to animal experimentation (PReMASUR) was approved under the Specialized Meeting on Science and Technology (RECYT) and has been coordinated by Inmetro ever since. PReMASUR, another key initiative from MCTI, relies on RENAMA's experts for training activities primarily in Brazil, offering opportunities for researchers from MERCOSUR countries. To date, PReMASUR has organized 25 courses focused on in vitro methodologies, training over 250 professionals from Brazil and other MERCOSUR member countries. Additionally, Inmetro has conducted four interlaboratory comparisons, involving 17 participants, focused on OECD in vitro methods. Our findings strongly suggest that periodic evaluation of laboratory performance by an independent third party can significantly enhance the quality of results, even though such evaluations are not mandated under the Good Laboratory Practice (GLP) management system. Given the growing complexity of new technologies in this field, successful participation in interlaboratory comparisons—whether through a proficiency testing program or an external quality assessment (EQA) — can serve as credible evidence of a laboratory's quality and competence, recognized by key stakeholders such as regulators. This presentation will highlight the key advances and challenges encountered in building capacity for NAMs.

Advancing New Approach Methodologies (NAMs) in LATAM: From reconstituted skin and cornea to more complex models

Vanja Dakic

EPISKIN, Brazil, L'Oreal. E-mail: vanja.dakic@loreal.com

Summary

Latin America is demonstrating significant progress in adopting New Approach Methodologies (NAMs) for toxicological testing. This progress is evident in the region's increasing utilization of reconstructed human skin and cornea models to assess various toxicological endpoints. Over the past five years, these models have facilitated robust evaluations of skin irritation (OECD TG 439) and corrosion (OECD TG 431). Similarly, reconstructed human cornea, integrated into research protocols within the last two years, have enabled reliable eye irritation assessments (OECD TG 492 and 492B). Implementing OECD-accepted alternative models in countries like Brazil serves as a catalyst for broader NAM adoption within LATAM. In other geographies, progress was made in skin sensitization (OECD TG 497) with the development of defined approaches and genotoxicity with high tier 3D assays currently under ESAC peer review. To further advance the safety assessment of cosmetic ingredients and address critical adverse human health effects such as repeated dose systemic toxicity, current research endeavors are focused on implementing and building confidence on frameworks based on new approach methodologies. These efforts signify the region's commitment to refining regulatory toxicology and reducing reliance on animal testing. Crucial to this progress is continued collaboration between the scientific community and regulatory bodies, which will be essential to foster the development, validation, and widespread acceptance of these vital alternative methods within LATAM.

Canada's path to NAM's implementation in chemical regulatory programs: successes, challenges and shaping the future

Tara Barton-Maclaren

Health Canada - Santé Canada. E-mail: tara.bartonmaclaren@hc-sc.gc.ca

Summary

Health Canada, like many international regulatory agencies, is committed to integrating New Approach Methods (NAMs) to address information needs in different regulatory contexts and to promote the transition toward replacing animal toxicity testing methods for the implementation of Next Generation Risk Assessment (NGRA). This is underscored by the newly introduced amendments to the Canadian Environmental Protection Act (CEPA) requiring the timely incorporation of alternative methods and strategies, as science permits, for chemical toxicity testing and assessment. It is recognized that this effort will take time, needing a progressive and iterative approach. Focusing on the application of NAMs in the context of data poor industrial chemicals, an emphasis under Canada's Chemicals Management Plan (CMP) has been on the development and standardization of fit-for-purpose *in silico* and *in vitro* methods to increasingly support prioritization, grouping and read-across, and for use as quantitative risk-based approaches that can be as protective of human health in the absence of traditional *in vivo* hazard data. This presentation will highlight key advances in computational approaches for hazard identification and the use of methods for deriving NAM-based points-of-departure from *in vitro* bioactivity data using *in vitro*-*in vivo* extrapolation. To guide future efforts at achieving the goal of replacing, reducing or refining the use of vertebrate animal testing, a strategy is being developed within the context of CEPA; the proposed key elements to be addressed on the path to implementation will be discussed. Together, these efforts contribute to the development of robust methods for integration into larger NAM-based frameworks and support the global transition to a non-animal approach to chemical risk assessment.

Regulatory acceptance of non-animal methods (NAMs) for cosmetics in Brazil

Julcemara Gresselle de Oliveira

Anvisa, Brazil. E-mail: JULCEMARA.OLIVEIRA@anvisa.gov.br

Summary

The Brazilian Health Regulatory Agency (Anvisa) is responsible for regulating and monitoring the compliance of cosmetics exposed to consumption in Brazil. The word “cosmetics” is used here to refer to cosmetics, personal hygiene products and perfumes. Resolution RDC 752, of 2022, from Anvisa defines and establishes technical requirements and procedures for the regularization of cosmetic products, among other requirements. The regularization of these products must be through registration or prior communication by notification. The company responsible for the regularization of cosmetic products must have complete data proving the safety of the product and guarantee that the product complies with current regulations. However, it is only when proof of specific safety is required by current regulations or when a safety attribute is expressed on the label, that it is mandatory to present a summary of data proving safety of use in the product regularization process. The Guide for Safety Assessment of Cosmetic Products, from 2012, and Resolution RDC 35, from 2015, which provides for the acceptance of alternative methods of animal experimentation recognized by the National Council for the Control of Animal Experimentation – Concea, published by Anvisa, establish general guidelines for Regulatory Acceptance of NAMs for Cosmetics in Brazil. Furthermore, publications from the International Cooperation on Cosmetics Regulation (ICCR), of which Anvisa is a member, and the Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD), are also used as complements to Anvisa publications. Vertebrate animal testing is not required to assess the safety of cosmetics. It is possible to prove the required toxicological endpoints based on ingredient information, in vitro methods and/or clinical tests, following the Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA). The presentation will give an overview of the Regulatory Acceptance of NAMs for Cosmetics in Brazil, considering the publications mentioned in this summary.

Estrategias para la integración de información

Ester Carregal Romero

División de Salud y Seguridad Ambiental de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). Correo electrónico: ester.carregalromero@oecd.org

Resumen

Minimizar los riesgos ambientales y para la salud humana asociados a los productos químicos es un tema regulatorio crítico. Este ejercicio requiere la identificación, compilación e integración de información acerca de los peligros intrínsecos de las sustancias químicas, la exposición y las relaciones entre exposición, dosis y efectos adversos. Avances significativos en métodos de prueba, biotecnología y modelos computacionales permiten pruebas de toxicidad más rápidas, menos costosas y más relevantes para las respuestas humanas que los métodos tradicionales de prueba de toxicidad. Estos nuevos métodos se basan en enfoques que reducen la necesidad de pruebas en animales (métodos *in vitro*, *in chemico*, modelos computacionales).

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) ha desarrollado estrategias para la integración de información con el fin de promover la adopción regulatoria de estas nuevas metodologías, contribuyendo así a una mayor eficiencia y ética en la evaluación de la seguridad de las sustancias químicas. Tres de estas estrategias clave son:

Integrated Approaches for Testing and Assessment (IATAs, enfoques integrados para la prueba y evaluación) combinan múltiples fuentes de información para concluir sobre la toxicidad de los productos químicos. Los IATA pueden incluir información existente de la literatura científica u otras fuentes, junto con datos recién generados como resultado de nuevos métodos de prueba de toxicidad o métodos tradicionales para llenar lagunas de datos. Estos enfoques se desarrollan para abordar un escenario regulatorio específico o un contexto de toma de decisiones.

Los *Defined Approaches* (enfoques definidos) son similares a los IATAs ya que hacen predicciones basadas en múltiples fuentes de datos, pero los enfoques definidos están basados en reglas. Proporcionan un marco estructurado y reproducible.

La integración de datos de diferentes métodos y fuentes puede ser compleja, especialmente al considerar diferentes niveles biológicos y las relaciones entre eventos clave y efectos adversos. Para abordar esto, se utilizan los *Adverse Outcome Pathways* (AOP, vías de resultados adversos) como un marco para organizar y evaluar datos recopilados de diferentes métodos y relevantes para diferentes niveles biológicos.

Perspectivas regulatorias para el uso de animales de experimentación

Manuel Eduardo Góngora-Medina¹, Litta Samari Perico-Franco^{2*}

¹ Pontificia Universidad Javeriana, Colombia

² Universidad Nacional de Colombia. *Correo electrónico: lspericof@unal.edu.co

Resumen

El uso de animales como modelos de investigación genera dilemas éticos por el estatus moral animal que reconocen las sociedades contemporáneas, lo que ha impulsado la generación y validación de nuevas herramientas que Reemplacen el uso de animales, Reduzcan el número utilizado o Refinen las técnicas en pro del bienestar animal (3R), sin afectar el progreso científico, académico e industrial. Es así como en diferentes países y regiones se han desarrollado normativas para impulsar la adopción de métodos alternativos (MA) con la creación de centros que validen y regulen su implementación. En Colombia se constituyeron nuevas leyes que reconocen a los animales como seres sintientes y se prohíbe su uso en ciertas áreas como la evaluación de la seguridad y eficacia de productos cosméticos. Sin embargo, es necesario reglamentar la ley con el fin de implementar los cambios regulatorios requeridos para realizar la transición a MA en los casos necesarios. Con este fin se deben articular las partes interesadas (entidades del estado, investigadores, academia, industria y gremios profesionales) y construir de manera conjunta planes de acción, considerando la experiencia de países de referencia sobre las mejores formas para desarrollar los marcos regulatorios, los mecanismos para establecer centros o laboratorios que puedan ofertar pruebas con MA, las estrategias para orientar la validación de MA y la consolidación de un repositorio de información de pruebas alternativas válidas, junto a capacitaciones para que los interesados puedan encontrar la información técnica y regulatoria que les permita tomar decisiones para aplicar adecuadamente

PRESENTACIONES ORALES

El valor de la certificación cruelty free en la industria cosmética (COL010)

Camila Cortínez ¹, Nicole Valdebenito ², Daniela Medina ³, Marisol Queupumil ^{3*}

¹ ONG Te Protejo-Alemania

² ONG Te Protejo-México

³ ONG Te Protejo-Chile. *Correo electrónico: marisol@ongteprotejo.org

Resumen

El mercado cosmético latinoamericano crece a paso firme, se espera que su valor para el año 2025 alcance los 45.440 millones de dólares. Sin embargo, esta tendencia implica un aumento de animales utilizados para experimentación. Si bien algunos países han fortalecido sus leyes para regular el testeo animal en cosmética, mientras éstas no se implementen y se permitan estas prácticas en otras zonas del mundo, la única herramienta efectiva que poseen los consumidores para asegurarse de que los productos no han sido testeados en animales, es la certificación Cruelty Free. Este proceso inspecciona la cadena de suministro de las empresas para verificar que los proveedores de ingredientes y productos no encargan ni realizan pruebas en animales. Esta acreditación resulta valiosa para los consumidores ya que, una encuesta realizada el año 2019 en Chile, mostró que el 74% de los encuestados no compraría productos testeados en animales, y en consecuencia, hoy el atributo Cruelty Free está consolidado en los principales retailers del país. Marcas como Petrizzio y Ballerina se vieron impulsadas a acreditarse por las demandas de la ciudadanía, y ahora destacan como pioneras en certificarse con Te Protejo, única organización de origen latinoamericano que ofrece este sello. Más de 500 marcas en la región son Cruelty Free, entre las que destacan Natura, L'bel, Ésika, Cyzone; y a nivel internacional, empresas o conglomerados como Lush, The Body Shop y Unilever, han demostrado un gran compromiso con la causa: generan instancias de aprendizaje, fomentan el avance de los proyectos de ley (campana financiada por Lush en 2021 para impulsar la aprobación boletín 19.966-11 que busca prohibir el testeo animal para cosméticos en Chile), campañas de concientización (campana Forever Against Animal Testing en 2017 financiada por The Body Shop), y apoyan el desarrollo de métodos alternativos (Unilever ha desarrollado al menos 8 pruebas ensayos NAM'S para la evaluación de la seguridad de sus ingredientes, desde 1990 se cuenta con el SEAC, equipo de 160 científicos que

utilizan el Enfoque Basado en Evidencia para acreditar la seguridad de productos e ingredientes, desde el 2023 es miembro de ICCS, coalición que evalúa y desarrolla enfoques de evaluación de seguridad libres de testeo animal). Los métodos alternativos. Éstos últimos son altamente respaldados por los consumidores de cosmética, es por ello que resulta fundamental seguir impulsando el cambio y ayudar a las marcas a transitar hacia una cosmética segura para las personas y respetuosa hacia los animales.

Simulator as a tool to support training in the surgical technique of extracapsular cataract extraction in canines (COL026)

Laura Sofía Baquero Silva ¹, María Alejandra Garzón Garzón ^{1*}, Carlos Páez Luengas ², Lizeth Vega-Medina ¹

¹ Faculty of Engineering, Bioengineering Program, Universidad El Bosque. *E-mail: malgarzong@unbosque.edu.co

² Professional in Veterinary

Summary

The increasing presence of domestic animals in homes has generated the need for specialized veterinary care, such as veterinary ophthalmology. Cataracts, a common cause of blindness in canines, may have hereditary aetiology or be associated with other diseases, and their timely diagnosis and treatment are crucial to preserve the animal's quality of life. Although surgery is the primary treatment, its success depends mainly on the surgeon's skill; the extracapsular extraction technique, one of the most used, presents intraoperative complications in up to 10% of cases. Because training with cadavers does not adequately replicate ocular biomechanical properties, a simulator prototype has been developed for training this technique, allowing realistic practices and improving professional competence. The development of the simulator involved the characterisation of the eye and the surgical technique through a bibliographic and experimental review, as well as a biomechanical analysis of the eye under stress and pressure, taking into account the forces generated by the extraocular muscles and the force required for the initial incision in the sclera (2.36 N), which an electronic system will measure during the procedure. In the design stage, 3D modeling of the mechanical and electronic systems was performed, using 3D printing and casting techniques to obtain the parts that simulate the tissues and the mesocephalic head of the canine. For the electronic design, strain gauges were proposed, specifically the BF120-10AA model, which allows measuring the established force. A first evaluation showed improvements in the simulator design concerning the size and arrangement of the interchangeable parts. In conclusion, the characterisation, design, and implementation process allowed for the optimal sizing of the defined skull type and the understanding of the corresponding biomechanical behavior. Although the calibration process of the electronic system is ongoing, preliminary results indicate that the location selected for the sensor allows for reducing dead zones and minimizing the margin of error in measurements.

Implementación de un programa de seguimiento del movimiento animal para investigar tratamientos innovadores en la dependencia a cocaína fumable (COL015)

Fabián Leonardo Barreto Pedraza*, María Constanza Lozano Álvarez, Jorge Ariel Martínez Ramírez

Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. *Correo electrónico: fbarretop@unal.edu.co

Resumen

Algunos estudios preclínicos sugieren el uso de cannabis para el tratamiento de la adicción a la cocaína. El objetivo de este trabajo fue determinar el potencial terapéutico de un extracto del cannabis no psicoactivo y CBD aislado como una nueva perspectiva para tratar la dependencia de la cocaína fumable en un modelo murino, siguiendo el paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL). Durante toda la experimentación (56 días) fue usado un software especializado (AnyMaze®) que permitió medir con precisión el tiempo de exploración para 9 grupos experimentales de 10 individuos y un grupo control de 24 individuos (n=114). Gracias al uso de este software se pudo utilizar un número mayor de individuos en un ensayo a la vez, y esto permitió reducir el porcentaje de error comportamental. De este modo, con este software se obtuvieron datos paramétricos con un número reducido de individuos, lo cual supone una mejora en la técnica de recolección de datos si se compara con otras técnicas más antiguas. Al concluir los experimentos de CPL se observó un comportamiento más tranquilo de los individuos experimentales al no estar presente el investigador durante el ensayo. Además, el uso del software facilitó la rápida estandarización de los experimentos y protocolos de CPL ahorrando tiempo de experimentación. Todas estas mejoras se traducen en un refinamiento de las técnicas utilizadas en el manejo de los animales y evita el empleo de más unidades de experimentación asociadas a errores durante el desarrollo de los diferentes ensayos. Esto aumenta la confiabilidad de los datos obtenidos y supone una reducción sustancial en la repetición de ensayos. Con esta metodología propuesta fue posible identificar que el extracto de cannabis no psicoactivo es mejor que el CBD como tratamiento a la dependencia de la cocaína fumable.

***Artemia salina*: modelo alternativo al ensayo de letalidad en ratones inducida por venenos de serpiente y neutralización por antivenenos ofídicos (COL008)**

Xavier Araya ^{1*}, Mitchel Okumu ², Gina Durán ¹, Aarón Gómez ¹, José María Gutiérrez ¹, Guillermo León ¹

¹Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. *Correo electrónico: reivaxares@gmail.com

²Departamento de Salud Pública, Farmacología y Toxicología, Universidad de Nairobi, Kenia.

Resumen

El modelo en ratones es la principal herramienta en investigación de venenos de serpiente al evaluar la toxicidad de venenos y la eficacia preclínica de antivenenos. Sin embargo, estas pruebas demandan muchos ratones e implican mucho sufrimiento. El ensayo de toxicidad en *Artemia salina* puede ser una alternativa al empleo de ratones por su fácil manejo, bajo costo, hallazgos rápidos, beneficio ético y amplio uso en toxicidad ambiental. Sin embargo, su aplicación en venenos y antivenenos ha sido limitada y se desconoce si la misma se correlaciona con la prueba de letalidad en ratones. El objetivo fue caracterizar la utilidad del ensayo en *A. salina* como modelo sustituto para evaluar la toxicidad de venenos de serpiente y la eficacia de antivenenos. Se determinó la letalidad de venenos de 22 serpientes de importancia médica en África Sub-Sahariana, en ratones (dosis letal media, DL₅₀) tanto por vía intraperitoneal (i.p) como intravenosa (i.v) y en *A. salina* (concentración letal media, CL₅₀). Subsecuentemente, se determinó la capacidad de un antiveneno para neutralizar la toxicidad de estos venenos (dosis eficaz media, DE₅₀) en ambos modelos.

Se observó correlación moderada entre las DL₅₀ vía intravenosa e intraperitoneal en ratones, entre DL_{50s} intravenosa entre ratones y CL_{50s} en *A. salina* y entre DL_{50s} intraperitoneal en ratones y CL_{50s} en *A. salina*. Se observó una fuerte correlación entre las DE_{50s} intraperitoneales e intravenosas en ratones, intraperitoneales en ratones y en *A. salina*, e intravenosas en ratones y en *A. salina*. Estos hallazgos permiten proponer el ensayo de toxicidad empleando *A. salina* como candidato sustituto del ensayo en ratones especialmente en etapas del control rutinario de calidad de antivenenos, por ejemplo, al evaluar la capacidad neutralizante del plasma hiperinmune o al verificar el desempeño de lotes completos de antivenenos. Es necesario ampliar estas observaciones con otros venenos y antivenenos.

Larvas de *Tenebrio molitor* como protocolo experimental para avaliação de estresse oxidativo utilizando silibinina (COL039)

Anamaria Mendonça-Santos¹, Ana Maria Santos-Oliveira^{2*}, José Adão Carvalho-Nascimento-Júnior², Cláudio Carvalho-Santana-Júnior¹, Alcimary Bispo-Santos³, Sílvia Vitoria Silva-Cezar³, Paula dos-Passos-Menezes^{2,5}, Izabel Almeida-Alves⁴, Mairim Russo-Serafini^{1,2,3}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil. *E-mail: anaoliveira.farmacia@gmail.com

³ Departamento de farmácia, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil.

⁴ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

⁵ SejaPhD, Brasil.

Summary

A exposição da pele de forma exacerbada pelas diferentes fontes de radiação UV gera danos cutâneos, como a formação de espécies reativas a oxigênio, que são evitadas na presença de antioxidantes. Dentre os produtos naturais que se destacam com essa atividade, encontra-se a silibinina, principal bioativo da silimarina, que apresenta atividades como: anti-inflamatória, citoprotetora, anticarcinogênica. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi estudar o estresse oxidativo da silibinina em larvas de *Tenebrio molitor*. Para tal análise, o estresse oxidativo foi induzido pela administração de 2µL de peróxido de hidrogênio, após 1 hora de tratamento. Os grupos foram divididos da seguinte forma: *Shan* (larvas não tratadas e sem indução do estresse oxidativo), controle negativo (salina + peróxido de hidrogênio), controle positivo (Trolox (1µg/mL) + peróxido de hidrogênio), veículo (salina) e tratamento (20 mg/kg de silibinina + peróxido de hidrogênio). Após 1 hora das administrações, a linfa das larvas foi coletada por grupo (através de corte na larva), diluída em tubos Falcon com 2 mL de salina, filtrada e analisada por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de *Fourier*. Como resultado, o espectro da silibinina apresentou semelhança com as bandas do controle positivo, exibindo as mesmas bandas idênticas, como 1747, 1240 e 1158 cm⁻¹. A diferença entre eles se estabeleceu no deslocamento mais claro da maioria das regiões, como de 3602 a 3609, 3440 a 3444, 3328 a 3321,

1652 a 1650, 1590 a 1595, 1542 a 1540 e 1460 a 1465 cm^{-1} . Além disso, as bandas 2.930 e 2.854 cm^{-1} apareceram em ambos os espectros, mas na silibinina houve um claro aumento na intensidade do pico. Portanto, a substância silibinina apresentou atividade análoga ao estresse oxidativo em comparação ao controle positivo, sendo considerada uma substância promissora para a fotoproteção.

Evaluación de una matriz para un cultivo celular mixto en 3D y su aplicación como modelo de hipoxia renal (COL018)

Marco Ku-Centurión ^{1*}, Zesergio Melo ², Pavel Lugo-Fabres ^{1,3}

¹ Unidad de Biotecnología Médica Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Guadalajara Jalisco, México. *Correo electrónico: maku_al@ciatej.edu.mx

² Investigador por México CONAHCYT-Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO), Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara Jalisco, México.

³ Investigador por México CONAHCYT- Unidad de Biotecnología Médica Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Guadalajara Jalisco, México.

Resumen

Existen eventos que afectan al riñón trasplantado. El daño se denomina, daño por isquemia-reperfusión, es importante conocer los mecanismos fisiológicos involucrados. Han sido empleados modelos animales para replicar isquemia/reperfusión, sin embargo, debido a las tendencias en reducción del uso de animales, se han optado por estrategias libres de ellos. Actualmente los modelos de cultivo celular en 3D tienen un gran auge y popularidad, ellos proporcionan información de los eventos fisiológicos *in vivo*, pero sin utilizar organismos vivos. Es por ello, que evaluar la funcionalidad de una matriz de cultivo en 3D permitirá crear un modelo de hipoxia renal empleando un cultivo mixto de células renales. La matriz desarrollada permite desarrollar un modelo de hipoxia empleando células tubulares renales (HK2), mediante construcción de hidrogeles de 800 mm³ base gelatina 7.5% y alginato 3.75%. Fue evaluada la reproducibilidad y características fisicoquímicas. Finalmente, fueron embebidos esferoides de células HK2 obtenidos por cultivo en suspensión orbital 90rpm, 80%h y 5%CO₂, así mismo también células de endotelio vascular (EA.hy926) libres, esta construcción de matriz con células se estimuló con 100 µM CoCl₂. Se evaluaron matrices en 9 réplicas diferentes y en 5 días diferentes, se obtuvieron datos homogéneos y reproducibles, peso y altura promedio de 0.7 g y 0.6 cm respectivamente, con CV<7% por cada día para ambos parámetros, su capacidad de captación de agua alcanza un pico máximo a las 24h. Estas matrices fueron adecuadas para el crecimiento de células renales bajo condiciones estándar de normoxia, así como por hipoxia inducida con cloruro de cobalto a 100 µM sin afectar su viabilidad comparadas ante el control ($P<0.05$). En conclusión, fue posible formular matrices replicables de gelatina/alginato, con parámetros fisicoquímicos adecuados y se demostró biocompatibilidad con células renales humanas, permitiendo el potencial desarrollo de modelos fisiopatológicos libres de animales.

La hipertermia potencia la actividad citotóxica del paclitaxel en un modelo tridimensional de cáncer de seno tipo esferoide (COL049)

Natalia Meza Villalobos¹, Sandra Johanna Morantes^{1*}, Sandra Janeth Perdomo², Héctor Fabian Guarnizo³

¹Grupo INQA, Facultad de Ciencias, Programa Química Farmacéutica, Universidad El Bosque.

*Correo electrónico: smorantes@unbosque.edu.co

²Grupo INMUBO, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque

³Grupo de Investigación en Electromagnetismo, salud y calidad de vida, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque.

Resumen

El cáncer de seno es una patología con una de las tasas más altas de incidencia y mortalidad en Colombia y el mundo. Diferentes estrategias terapéuticas han sido empleadas para su manejo, sin embargo, el desarrollo de quimiorresistencia y la aparición de metástasis han obligado a explorar nuevas alternativas terapéuticas. Recientemente, se ha demostrado que terapias multimodales basadas en hipertermia mejoran la eficacia de tratamientos antitumorales, sin embargo, la evidencia en modelos 3D es limitada. En este trabajo se evaluó si la hipertermia aumentaba la actividad citotóxica del paclitaxel en un modelo tridimensional de cáncer de seno tipo esferoide. Los esferoides fueron generados a partir de células MCF-7 empleando placas de 96 pozos de adhesión ultrabaja Corning, cultivados en 200 μ L de DMEM suplementado con SFB al 10% y gentamicina (25 μ g/mL); 72 horas después de su formación, fueron tratados durante 48h con paclitaxel y luego expuestos a la hipertermia (45°C) por 5min. La viabilidad de los esferoides se evaluó mediante el ensayo de reducción de resazurina, el kit de fluorescencia Live/Dead y la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa. Adicionalmente, se evaluaron cambios morfológicos y la capacidad de formar clones. Los ensayos se realizaron en triplicado en tres experimentos independientes. Los resultados mostraron que la hipertermia (45°C por 5 min) potencia el efecto citotóxico del paclitaxel (0,160 μ M y 0,190 μ M) aumentando porcentajes de citotoxicidad a 51,6% y 59,8% respectivamente, en comparación con la hipertermia sola (20,9%) y el paclitaxel solo 0,160 μ M (22,6%) y 0,190 μ M (37,0%). Estos resultados fueron comparables a los encontrados en el ensayo clonogénico, observándose una clara disminución en la capacidad para proliferar y conformar colonias bajo las condiciones de ensayo establecidas. Por otro lado, los esferoides expuestos a ambos tratamientos disminuyeron la compactabilidad, lo que en consecuencia generó la

desagregación del esferoide parcial o totalmente, acompañado de disminuciones en la circularidad, esfericidad, convexidad y solidez. Con base en lo anterior se puede concluir que la hipertermia potenció el efecto citotóxico del paclitaxel por un sinergismo entre ambos tratamientos.

Desarrollo de un modelo 3D de artritis reumatoide para evaluar efecto de fármacos modificadores de la enfermedad (COL007)

Jessica Andrea Badillo-Mata ^{1*}, Hugo Esquivel-Solis ¹, Tanya Amanda Camacho-Villegas ¹, Pavel Hayl Lugo-Fabres ²

¹ Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, Guadalajara, Jalisco, 44270, México. *Correo electrónico: jebadillo_al@ciatej.edu.mx

² CONAHCYT-Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, Guadalajara, Jalisco, 44270, México.

Resumen

La artritis reumatoide (AR) afecta alrededor del 1% de la población mundial, está caracterizada por daño articular que lleva a pérdida de la función en etapas avanzadas. Actualmente no existe cura y hay aspectos de la enfermedad que aún se desconocen. Para entender la fisiopatología y encontrar tratamientos efectivos se utilizan modelos de la enfermedad. Los modelos en cultivo 3D permiten interacciones célula-célula, célula-matriz y hacer pruebas directamente en células humanas. Los modelos *in vitro* de AR se han concentrado en etapas tempranas para evaluar el daño en cartílago. En el presente trabajo se desarrolló un modelo de AR para simular el daño avanzado en la articulación, cuando hay afectaciones en el hueso subcondral. En el cultivo se utilizó un soporte de ácido poliláctico e hidrogel compuesto por gelatina-colágeno sin entrecruzar para simular las condiciones de una articulación con inflamación. Para simular las principales células responsables de este daño, se realizó un cocultivo con la línea celular HFF-1 de fibroblastos y monocitos humanos activados con LPS para obtener el fenotipo M1. En este cocultivo se expresa el TNF- α , citocina clave en esta patología, que fue detectada por ELISA y Western blot. En el modelo desarrollado se probaron fármacos ampliamente utilizados; un fármaco modificador de la enfermedad (metotrexato) y un antiinflamatorio (celecoxib) donde los resultados coincidieron con lo reportado anteriormente por otros autores, además de asemejarse al efecto *in vivo*. Adicionalmente, se comparó el efecto de fármacos entre el modelo desarrollado contra el cocultivo en monocapa, el primero demostró que se simulan de manera más adecuada las condiciones y respuestas que se dan *in vivo*. En conclusión, se desarrolló un modelo para simular daño avanzado en AR que permitió evaluar el efecto de fármacos y simuló de manera más adecuada la respuesta a éstos en comparación con el cultivo en monocapa.

Cuantificación de la fusión de agregados celulares: uso de un modelo *off-lattice* con parámetros geométricos extraídos de datos experimentales (COL029)

Nicolas Puentes-Urrego*, Gustavo Adolfo Orozco-Alvarado, Rubén Darío Godoy-Silva

Grupo de Investigación de Procesos Químicos y Bioquímicos, Universidad Nacional de Colombia.

*Correo electrónico: npuentesu@unal.edu.co

Resumen

La ingeniería de tejidos ha avanzado significativamente con el desarrollo de técnicas para crear estructuras tisulares complejas. Este estudio analiza la dinámica de fusión de agregados celulares mediante enfoques experimentales y simulaciones, comparando tres metodologías establecidas: Yalla, MecaGen y Oriola. Usando Julia y CUDA junto con nuestro programa CellAggregate.jl, investigamos parámetros clave como la fuerza de atracción-repulsión, las fuerzas contráctiles y el coeficiente de difusión del vector de polarización. La hipótesis principal es evaluar si estas metodologías pueden predecir con precisión tanto la fusión de agregados celulares como la estabilidad del proceso. Para evaluar esta hipótesis, se extrajo información sobre contornos de fusión de agregados de la literatura y se llevaron a cabo simulaciones y experimentos con datos estructurados. Se analizó cómo las fuerzas mencionadas afectan la dinámica de fusión y se compararon los resultados con las predicciones de los modelos. Los resultados muestran que el modelo biofísico es eficaz para identificar fases discretas de coalescencia y que la aproximación del vector de polarización describe adecuadamente las interacciones celulares. La calibración in-silico y las simulaciones revelan diferencias significativas en la velocidad y estabilidad de la fusión entre los enfoques de Oriola y MecaGen. Además, el estudio profundiza en la estabilización de un solo agregado celular bajo condiciones extremas, evaluando la pérdida de células y el desplazamiento cuadrático medio. La fusión de agregados celulares también se evaluó mediante la prueba de Chi-cuadrado, ofreciendo una visión integral de los aspectos topológicos en la bioimpresión de tejidos. En conclusión, la capacidad para cuantificar con precisión la fusión de agregados celulares es esencial en Ingeniería de tejidos. Este estudio subraya que una medición adecuada y modelización de estos procesos puede optimizar las técnicas de bioimpresión, mejorar el diseño de tejidos complejos y avanzar significativamente en el campo de la ingeniería de tejidos.

Explorando la expresión diferencial de genes en toxicología forense de opioides: un enfoque alternativo al uso de animales de experimentación (COL012)

Maicoll Arturo Vanegas-Lopez ^{1*}, Zuly Jenny Rivera-Monroy ², Jorge Ariel Martínez-Ramírez ³

¹ Laboratorio de Toxicología, Regional Bogotá, Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses y Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

*Correo electrónico: mavanegasl@unal.edu.co

² Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia

³ Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia

Resumen

El abordaje convencional para estudiar la causa de la muerte debido a una intoxicación por opioides involucra el uso extensivo de animales de experimentación, planteando no solo preocupaciones éticas, sino limitaciones en la interpretación de resultados desde un contexto legal. El objetivo de esta investigación fue identificar posibles biomarcadores y rutas metabólicas asociadas al uso de opioides como alternativa al uso de modelos animales, mediante técnicas de bioinformática para analizar la expresión diferencial de genes asociada a la toxicidad de dichas sustancias. El estudio se centró en datos obtenidos a través de repositorios como GEO DATASETS, que reúne información de muestras animales, humanas y de líneas celulares expuestas a diferentes concentraciones de opioides, utilizando plataformas de microarreglos y secuenciación de próxima generación para obtener perfiles detallados de expresión génica. Los datos recopilados, se analizaron mediante algoritmos avanzados para la identificación de patrones de expresión, mediante técnicas estadísticas robustas para la validación de la significancia de los genes diferencialmente expresados, aplicando a su vez, un análisis completo de enriquecimiento funcional, para explorar las vías biológicas afectadas. Este enfoque permitió identificar genes clave como DDR2, importante para la vía de la recompensa y algunos asociados a la interacción con los receptores opioides mu que pueden estar involucrados en la respuesta tóxica a los opioides. Además de proporcionar una metodología mucho más acorde con los lineamientos éticos en el uso de animales en la investigación, los resultados promueven la comprensión de la toxicología de los opioides a nivel molecular,

facilitando la interpretación de casos forenses relacionados con muerte por opioides. Este proyecto no solo subraya la viabilidad de los métodos alternativos en la investigación toxicológica, sino que también establece un precedente para futuros estudios en diversas áreas de la farmacología y toxicología que tradicionalmente dependen del uso de modelos animales.

Identificación *in silico* de moléculas con potencial actividad para el cáncer de seno triple negativo (COL025)

Miguel Ángel Cañon Robayo ^{1*}, Norma A. Valencia Islas ¹, Fabián López Vallejo ²

¹Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

*Correo electrónico: mcanonr@unal.edu.co

²Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales

Resumen

Entre los diferentes cánceres de seno, el triple negativo (TNBC) persiste como el más desfavorable por su elevada propensión a desarrollar metástasis. Dentro de las subclasificaciones del TNBC, destacan los tumores mesenquimales por su menor cobertura terapéutica; así como una alta asociación con marcadores metastásicos. En este contexto, la modulación de vías como la Wnt-Betacatenina, a través de Tankirasa 1 y 2 podría ser una opción terapéutica relevante. Por ende, el presente trabajo consistió en una fase inicial de investigación de inhibidores de Tankirasas mediante un cribado virtual basado en la estructura. Para ello, se obtuvo una librería de productos naturales derivados de microorganismos a partir del Lichen DB, el NPAtlas, y moléculas del grupo de investigación GRIQUIMED. Se efectuó un tamizaje basado en reglas extendidas de Lipinski y PAINS, seguido de un acoplamiento molecular empleando AutodockVina y Glide en un ensamble de 4 estructuras; finalizando con un filtro de cardiotoxicidad, hepatotoxicidad y mutagenicidad. De las 33863 moléculas iniciales, se destaca la Fellutanina A (NPA012964) por su afinidad estimada, así como sus características ADMET.

Rutas para evaluar la permeación cutánea utilizando el modelo experimental de piel humana nativa (COL001)

Barbara de Freitas Carli

Grupo Kosmoscience. Correo electrónico: barbara@kosmoscience.com

Resumen

Los principios activos utilizados en el tratamiento de las dermatosis ejercen sus efectos biológicos en los tejidos más profundos de la piel. Para eso, deben poder atravesar el estrato córneo. Por otra parte, por razones de seguridad, la permeación de la piel es indeseable para sustancias como, por ejemplo, protectores solares y repelentes de insectos, que ejercen su efecto sólo en la superficie de la piel. El método estandarizado para evaluar la permeación de la piel se describe en la directriz del ensayo 428 de la OCDE y consiste en aplicar la sustancia en estudio, en la superficie de una piel humana acoplada al aparato de difusión de Franz. La permeación se puede evaluar analizando la presencia de la molécula objetivo en las diferentes capas de la piel, utilizando técnicas analíticas cuantitativas, como cromatografía, espectrometría de masas, ensayo inmunoenzimático, entre otras. Para ampliar y diversificar las pruebas de permeación cutánea, utilizamos la técnica de espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), basada en el principio de absorción de IR, característicos de la molécula objetivo. Esta técnica se presenta como una herramienta menos costosa y más rápida para mediciones cualitativas, donde el objetivo es evaluar si la molécula permea o no el estrato córneo, alcanzando la epidermis viable. Otro recurso disponible consiste en evaluar la permeación marcando la molécula con un fluoróforo. Con este recurso es posible visualizar la profundidad de permeación de la molécula y semi cuantificar la intensidad de fluorescencia de esta permeación. El uso de piel humana nativa ex vivo es una ruta experimental bien establecida en nuestro laboratorio, es una herramienta estándar de oro para predecir pruebas de permeación y otras relacionadas con la seguridad y eficacia de productos tópicos, ya sean cosméticos, farmacéuticos, sanitarios o otro, por representar fielmente la diversa fisiología de la piel humana.

Evaluación de la permeación transepidérmica de productos lipolíticos con cafeína en Colombia: impacto en la seguridad del consumidor (COL009)

Heinny Estefanía León-Merchán, Liliana Astrid Martín-Reyes, Yolima Baena-Aristizábal*

Universidad Nacional de Colombia - Departamento de Farmacia - Grupo de investigación Sistemas para la liberación controlada de moléculas biológicamente activas (SILICOMOBA) - Carrera 30 # 45-03, Bogotá, Colombia. *Correo electrónico: ybaenaa@unal.edu.co

Resumen

En Colombia se comercializan productos de aplicación tópica que deben permear la piel para cumplir su propósito en capas más profundas. Es el caso de algunos productos con proclamas lipolíticas que contienen cafeína, un activo que actúa sobre los mecanismos de acumulación de grasa en los adipocitos, lo que además implica que la cafeína pueda llegar a la circulación sistémica, contribuyendo al riesgo de alcanzar su concentración tóxica. El objetivo de esta investigación fue estudiar el comportamiento de permeación de la cafeína incluida en estos productos, en un modelo basado en difusión pasiva empleando como barrera piel de cerdo. Se seleccionaron siete productos del mercado colombiano que prometen un efecto lipolítico para evaluar la liberación de la cafeína y su permeación empleando celdas de difusión de Franz. Previo a estos ensayos, los productos se caracterizaron fisicoquímicamente evaluando pH, contenido de cafeína, parámetros reológicos, microestructura, para establecer relaciones entre el comportamiento de permeación y las características del producto. Los resultados muestran que tres de los productos contienen cafeína en un porcentaje inferior al 0,009 [%w/w], mientras que los restantes tiene concentraciones superiores al 0,39 [%w/w]. Los ensayos de liberación y permeación demostraron que, en la mayoría de los casos, la cafeína se libera del producto, pero menos del 1% de la dosis aplicada alcanza la hipodermis. Este valor es menor a la concentración de cafeína reportada *in vitro* que causa un efecto lipolítico, lo que podría significar una ausencia de la actividad prometida y al mismo tiempo, aportar al aumento de los niveles plasmáticos del activo. La caracterización de los productos y el comportamiento de permeación de la cafeína a capas más profundas de la piel contribuyen a un mejor entendimiento de la relación entre la eficacia del producto y el riesgo toxicológico asociado a su uso.

Eye damage reversibility in an *in vitro* model of bovine cornea to replace the Draize test completely (COL011)

Martina Daniela Benedetti ^{1,2*}, Mariela Lenze ^{1,2}, Romina Martinez³, Maria Laura Gutierrez ^{1,2}

¹ CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina). *E-mail: martina_benedetti97@hotmail.com

² Instituto de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

³ Hospital Dr. Julio Méndez, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Summary

One of the requirements for the registration of substances such as agrochemicals is to provide evidence about their potential eye damage. The Draize test performed in rabbits allows the products to be classified into four categories, considering both the severity of the lesions produced in the animal's eye as well as its healing time. The available alternative methods to this live animal test do not allow documenting the damage reversibility, nor the time necessary for such reversibility to occur, as required by the Global Harmonized System classifications (GHS). Our proposal is to complement the *in vitro* model that uses the bovine cornea as a substrate to predict whether a substance is irritating or non-irritating (BCOP), with a strategy that allows predicting if the observed irritation is reversible and the time it takes to revert. This is necessary to finally replace the Draize test completely. Limbal stem cells play a crucial role in repairing corneal injury. Therefore, we isolated these cells from bovine corneas to evaluate their sensitivity to reference chemicals. A wound healing assay was performed to determine whether these substances affect the replication and migration capacities of the cells. Additionally, a limbal tissue explant culture model was implemented to study if chemical exposure differentially alters cell replication, migration, and overall wound healing. These were evidenced using crystal violet staining and histopathological analysis. In both, the wound healing assay and the limbal tissue explant culture, differences were observed among the different reference chemical treatments. However, these assays alone were insufficient to discriminate effectively between the four categories. While these methods individually were inadequate for accurate category discrimination, a comprehensive approach is being implemented to replace the Draize test. We are evaluating a combination of these methods along with others to assess their effectiveness in detecting the different categories of GHS.

El valor de la certificación cruelty free en la industria cosmética (COL010)

Camila Cortínez¹, Nicole Valdebenito², Daniela Medina³, Marisol Queupumil^{3*}

¹ONG Te Protejo-Alemania

²ONG Te Protejo-México

³ONG Te Protejo-Chile. *Correo electrónico: marisol@ongteprotejo.org

Resumen

El mercado cosmético latinoamericano crece a paso firme, se espera que su valor para el año 2025 alcance los 45.440 millones de dólares. Sin embargo, esta tendencia implica un aumento de animales utilizados para experimentación. Si bien algunos países han fortalecido sus leyes para regular el testeo animal en cosmética, mientras éstas no se implementen y se permitan estas prácticas en otras zonas del mundo, la única herramienta efectiva que poseen los consumidores para asegurarse de que los productos no han sido testeados en animales, es la certificación Cruelty Free. Este proceso inspecciona la cadena de suministro de las empresas para verificar que los proveedores de ingredientes y productos no encargan ni realizan pruebas en animales. Esta acreditación resulta valiosa para los consumidores ya que, una encuesta realizada el año 2019 en Chile, mostró que el 74% de los encuestados no compraría productos testeados en animales, y en consecuencia, hoy el atributo Cruelty Free está consolidado en los principales retails del país. Marcas como Petrizzio y Ballerina se vieron impulsadas a acreditarse por las demandas de la ciudadanía, y ahora destacan como pioneras en certificarse con Te Protejo, única organización de origen latinoamericano que ofrece este sello.

Más de 500 marcas en la región son Cruelty Free, entre las que destacan Natura, L'bel, Ésika, Cyzone; y a nivel internacional, empresas o conglomerados como Lush, The Body Shop y Unilever, han demostrado un gran compromiso con la causa: generan instancias de aprendizaje, fomentan el avance de los proyectos de ley (campana financiada por Lush en 2021 para impulsar la aprobación boletín 19.966-11 que busca prohibir el testeo animal para cosméticos en Chile), campañas de concientización (campana Forever Against Animal Testing en 2017 financiada por The Body Shop), y apoyan el desarrollo de métodos alternativos (Unilever ha desarrollado al menos 8 pruebas ensayos NAM'S para la evaluación de la seguridad de sus ingredientes, desde 1990 se cuenta con el SEAC, equipo de 160 científicos que utilizan el Enfoque Basado en Evidencia para acreditar la seguridad de productos e ingredientes, desde el 2023 es miembro de ICCS, coalición que evalúa y desarrolla enfoques de evaluación

de seguridad libres de testeo animal) . Los métodos alternativos. Éstos últimos son altamente respaldados por los consumidores de cosmética, es por ello que resulta fundamental seguir impulsando el cambio y ayudar a las marcas a transitar hacia una cosmética segura para las personas y respetuosa hacia los animales

Rutas para evaluar la permeación cutánea utilizando el modelo experimental de piel humana nativa (COL001)

Barbara de Freitas Carli

Grupo Kosmoscience. Correo electrónico: barbara@kosmoscience.com

Resumen

Los principios activos utilizados en el tratamiento de las dermatosis ejercen sus efectos biológicos en los tejidos más profundos de la piel. Para eso, deben poder atravesar el estrato córneo. Por otra parte, por razones de seguridad, la permeación de la piel es indeseable para sustancias como, por ejemplo, protectores solares y repelentes de insectos, que ejercen su efecto sólo en la superficie de la piel. El método estandarizado para evaluar la permeación de la piel se describe en la directriz del ensayo 428 de la OCDE y consiste en aplicar la sustancia en estudio, en la superficie de una piel humana acoplada al aparato de difusión de Franz. La permeación se puede evaluar analizando la presencia de la molécula objetivo en las diferentes capas de la piel, utilizando técnicas analíticas cuantitativas, como cromatografía, espectrometría de masas, ensayo inmunoenzimático, entre otras. Para ampliar y diversificar las pruebas de permeación cutánea, utilizamos la técnica de espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), basada en el principio de absorción de IR, característicos de la molécula objetivo. Esta técnica se presenta como una herramienta menos costosa y más rápida para mediciones cualitativas, donde el objetivo es evaluar si la molécula permea o no el estrato córneo, alcanzando la epidermis viable. Otro recurso disponible consiste en evaluar la permeación marcando la molécula con un fluoróforo. Con este recurso es posible visualizar la profundidad de permeación de la molécula y semi cuantificar la intensidad de fluorescencia de esta permeación. El uso de piel humana ex vivo es una ruta experimental bien establecida en nuestro laboratorio, es una herramienta estándar de oro para predecir pruebas de permeación y otras relacionadas con la seguridad y eficacia de productos tópicos, ya sean cosméticos, farmacéuticos, sanitarios u otro, por representar fielmente la diversa fisiología de la piel humana.

PRESENTACIONES PÓSTER

Integración académica de la 3Rs en la educación superior: Implementación y desafíos en la formación en Ciencias Farmacéuticas (COL022)

M. Pilar Vinardell*, Adriana S. Maddaleno, Montserrat Mitjans

Fisiología, Departamento de Bioquímica y Fisiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, España. *Correo electrónico: mpvinardellmh@ub.edu

Resumen

A pesar de que en Europa desde 2010 el seguimiento del principio de las 3Rs es un requisito previo a cualquier experimentación con animales, aún persiste un considerable desconocimiento en el ámbito académico ya que actualmente no existe ninguna asignatura dedicada a las 3Rs en los programas de grado, lo que subraya la necesidad de una formación adecuada sobre el tema. En este contexto, hemos trabajado para integrar este principio en cursos de máster y en algunas asignaturas del grado de Farmacia. Hemos impartido clases y/o cursos de máster entre 2 y 30 horas de duración para un total de entre 15 y 30 estudiantes. Todos los estudiantes superaron satisfactoriamente la asignatura. A nivel del grado de Farmacia, hemos incorporado el principio de las 3Rs en los trabajos de fin de grado consistentes en trabajos bibliográficos. En cada curso participaban 2-3 estudiantes bajo nuestra directa supervisión. Los estudiantes debían realizar búsquedas sobre metodologías alternativas a experimentos tradicionalmente realizados con animales de laboratorio. El resultado ha sido exitoso ya que los estudiantes implicados obtuvieron muy buenas calificaciones además de manifestar un elevado grado de satisfacción por tener la oportunidad de aprender sobre un tema del que no tenían formación previa. Asimismo, hemos formado a estudiantes en una asignatura experimental optativa denominada "Trabajo Dirigido". En esta asignatura los estudiantes se incorporan durante un semestre a un grupo de investigación colaborando en las tareas del grupo y son evaluados mediante una presentación oral y la memoria escrita. En nuestro laboratorio, los estudiantes (2 por curso) se formaron en técnicas *in vitro* alternativas en estudios de toxicología y en el principio de las 3Rs. Se continuará con estos cursos que constituyen la única manera que existe actualmente ya que no existen asignaturas de grado donde se trate el tema, ni se han planteado a nivel institucional para un futuro plan de estudios.

Creación de un centro especializado en métodos alternativos en la Universidad de Costa Rica (COL017)

Freddy Arias Mora

Director Laboratorio de Ensayos Biológicos de la Universidad de Costa Rica. *Correo electrónico: Freddy.arias_m@ucr.ac.cr

Resumen

El Laboratorio de Ensayos Biológicos de la Universidad de Costa Rica (LEBi-UCR) es una unidad especial de investigación que tiene más tres décadas de trayectoria en la conducción de ensayos empleando diversos modelos animales, como ratas, ratones, conejos y hamsters. Se realizan una gran variedad de pruebas que incluyen modelos de seguridad y eficacia de medicamentos para humanos o animales, agroquímicos y productos naturales. En el LEBi, se creará la sección de métodos alternativos, la cual tendrá un laboratorio de cultivo celular, un acuario de investigación y un laboratorio de toxicología computacional e inteligencia artificial. La creación de estos laboratorios permitirá reducir el número de animales que se requieren para pruebas de toxicidad. Por medio de modelaje molecular, algoritmos de predicción de log P, pruebas *in vitro* se podrá obtener perfiles de seguridad en menor tiempo y también con una cantidad de animales menor. Además de las predicciones *in silico* y pruebas *in vitro*, el uso de peces cebra permitirá reducir el uso de roedores. Se podrá sustituir el uso de conejos para la determinación de la irritabilidad dérmica y ocular. Los laboratorios realizan acciones tendientes a disminuir el uso de animales, sin embargo, es necesario una integración en el funcionamiento y desarrollo de modelos que sustituyan de manera certera los modelos biológicos *in vivo*. Dentro de los principales retos está la necesidad de capacitación en distintas técnicas. Desarrollar modelos utilizando inteligencia artificial requiere equipos y software especializado, pero también colaboración de muchas instancias nacionales e internacionales. Para seguir avanzando en el desarrollo de métodos alternativos, se requiere adaptaciones de las estructuras administrativas y organizacionales, además de inversiones que deben ser incorporadas en la planificación estratégica de la Universidad. Indudablemente las inversiones que se realicen en esta línea, mejorará la calidad de las investigaciones y el bienestar animal.

Validación de sistema de simulación de intubación oro-traqueal en caninos (COL034)

Grace Echeverri-Lugo ^{1*}, Iván Martín-Abaúnza ², Andrea Uribe ²

¹Fundación Universitaria San Martín. *Correo electrónico: grace.echeverri@sanmartin.edu.co

²Universidad de La Salle

Resumen

La aplicación de múltiples técnicas de intervención médicas requiere entrenamiento repetitivo y curvas de aprendizaje para validar el dominio e implementación por parte del profesional en su práctica clínica. En Medicina Veterinaria el uso de animales vivos para la formación, presenta desafíos éticos, logísticos y económicos, además de necesitar supervisión especializada en pro del bienestar animal. Por esta razón la búsqueda de opciones sustitutas para el aprendizaje de estas técnicas, se enfoca cada vez más en el uso de herramientas alternativas en el ámbito de la simulación clínica. Amparados en tecnologías como la segmentación de imágenes médicas y manufactura aditiva se pueden fabricar simuladores que permiten replicar de manera realista modelos anatómicos, que emulen técnicas y procedimientos médicos, facilitando el aprendizaje práctico y la mejora continua de habilidades específicas en quienes los usen. Este estudio evalúa un simulador de sondaje oro-traqueal canino fabricado con impresión 3D, con el cual 60 Médicos Veterinarios y estudiantes de último semestre de pregrado con experiencia en clínica veterinaria, realizaron la técnica antes descrita para luego proceder a completar una encuesta tipo Likert. Los resultados preliminares indican que el 21% de los encuestados (13 participantes) no están familiarizados ni capacitados en la técnica de intubación oro-traqueal. También se destaca la dificultad en comprender el modelo anatómico, en contraste con aquellos que ya conocen y están familiarizados con la técnica, quienes consideran útil el simulador para adquirir destreza. Se concluye que los simuladores como método de enseñanza alternativa pueden optimizar el aprendizaje a través de la repetición controlada, fomentando la adquisición de patrones precisos y memoria muscular, cruciales en la atención de pacientes caninos, aunque es necesario realizar estudios longitudinales para evaluar la efectividad de los simuladores clínicos, analizando cómo impactan en la precisión técnica, la toma de decisiones clínicas y los resultados en pacientes.

The AFSA Master Class provides instruction to address information needs in animal-free safety assessment of cosmetics and cosmetic ingredients (COL050)

Bianca Marigliani

Humane Society International Research & Toxicology, Brazil. E-mail: bmarigliani@hsi.org

Summary

The Animal-Free Safety Assessment (AFSA) Collaboration Master Class in animal-free risk assessment of cosmetics and cosmetic ingredients (chemicals) is an in-depth, free, online course — available at www.afsacollaboration.org/masterclass — that covers all aspects of performing a human health safety assessment for cosmetics and cosmetic ingredients (chemicals). The course is designed in 9 modules: an introduction on animal-free risk assessment; problem formulation, including developing an aim, hypothesis, and initial literature review; consumer exposure including oral, dermal, respiratory exposure, deterministic and probabilistic modeling, and aggregate exposure; predictive chemistry, which is in two parts - in silico tools and read-across — and includes detailed descriptions of the types of data and modeling techniques used; exposure-based waiving for the three major routes of exposure, oral, dermal and respiratory; safety of botanicals (complex mixtures/extracts), including history of safe use; bioactivity assessment including descriptions and examples of various types of in vitro methods and how to combine these methods to address the major toxicological information needs; internal exposure (dosimetry) including a description of the data and modeling used in physiologically-based kinetic modeling, in vitro-to-in vivo extrapolation, and integration into risk assessment; and a module discussing the process of reaching a risk conclusion with a detailed walk-through of eleven case examples describing different problem formulations (chemicals, products, toxicological endpoints). A separate module discusses the global regulatory landscape for cosmetics and chemicals. AFSA invites all interested stakeholders to register and contribute to a more effective, efficient and ethical safety paradigm for cosmetics and chemicals.

Physiology-Based Pharmacokinetic modeling of tafenoquine: Promoting alternatives to animal and clinical testing (COL036)

Luisa Oliveira Santos¹, Izabel Almeida Alves^{1*}, Diana Marcela Aragon Novoa², Francine Johansson Azeredo^{1,2}

¹ Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacometrics, Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, Bahia, Brazil. *E-mail: izabel.alves@ufba.br

² Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

³ Center for Pharmacometrics & Systems Pharmacology, Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, University of Florida, Orlando, Florida, FL, United States of America.

Summary

Physiology-Based Pharmacokinetics (PBPK) utilize models and simulations combining physiology, population, drug substance, and product characteristics to mechanistically describe the pharmacokinetic behaviors of a drug^[1]. PBPK has become a promising tool to answer some pharmacological questions, to promote the use of *in silico* approaches as alternative methods for animal and clinical studies^[1,2]. Malaria is an acute febrile infectious disease transmitted by the bite of the female *Anopheles*^[3]. In South America cases are related to the etiological agent *Plasmodium vivax*. This species has evolutionary forms that remain dormant in the liver^[4,5]. Tafenoquine (TQ) is an 8-aminoquinoline analog of primaquine that appears promising due to its single-dose administration. However, being a prodrug, there are concerns regarding its drug-drug interactions^[6]. A PBPK model for TQ was developed in the PK-SIM[®] software(v.11) utilizing previously published studies of physiological characteristics and pharmacokinetic studies of plasma concentrations of tafenoquine in humans and animals. The model was created based on a healthy male European individual considering CYP2D6 as the predominant metabolizing enzyme. For some parameters that could not be determined or were found to be relevant after sensitivity analyses, parameter identification based on plasma concentration-time profiles was performed using a subset of the available clinical studies (training dataset) for model optimization. The model was evaluated qualitatively by comparing observed and predicted data with good data fitting, and quantitatively by calculating mean relative deviations(MRD) with a mean value of 0.18, and geometric mean fold errors(GMFE) of the area under the concentrations-time curve(AUC)

and maximum concentration (C_{max}) of all the simulations, which were 1.67 for AUC and 1.83 for C_{max} . The mean values were all within the acceptance range of 0.5-2.0. In summary, the model showed satisfactory descriptive and predictive power and could be used to evaluate drug-drug interactions, reducing the need for animal use and new clinical studies

PBPK Modeling as an approach to support the 3Rs in interspecies extrapolation: A systematic review (COL037)

Karen Dayana Lancheros Porras ^{1*}, Diana Marcela Aragón Novoa ¹, Izabel Almeida Alves ²

¹ Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia. *E-mail: kdlancherosp@unal.edu.co

² Faculty of Pharmacy, Federal University of Bahia, Salvador, BA, Brazil.

Summary

The use of animals in biomedical research is a practice that continues to prompt ethical and scientific debate due to animal suffering, reliability, and limitations for extrapolation of data to humans [1,2]. An alternative to traditional methods for interspecies extrapolation is Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) modeling. This approach simulates the anatomical structure of species using a computational model in which organs or tissues are represented as compartments interconnected by arterial and venous flows and are described by differential equations to predict the change in the concentration of the evaluated molecule [3]. The aim of this systematic review was to analyze published articles that used PBPK models for interspecies extrapolation in drug development and health risk assessment. For this, a systematic search was performed in PubMed using the following search terms: “PBPK” and “Interspecies extrapolation,” and the review was conducted following PRISMA guidelines. It was determined that the main application of the PBPK models was to evaluate the dose-response assessment for toxic agents (47%). The main source for obtaining the anatomical and physiological parameters required for the development of the models was literature data (64%), and rats and mice were the most used animal models (82%). PBPK modeling demonstrated a comprehensive application of the 3R concept (Replacement, Reduction, and Refinement). The use of animals was replaced by employing *in vitro* or *in silico* methodologies and utilizing parameters reported in the literature. *In vivo* studies were conducted only when necessary to validate the model or obtain input parameters that could not be acquired by other methods, thereby reducing the number of animals. Finally, PBPK models allowed the determination of toxicity endpoints and the establishment of humane endpoints, refining methodologies in animal studies for interspecies extrapolation.

Efecto neuroprotector en células CAD del incarnatósido y el stachysósido C aislados de las raíces *Scutellaria incarnata* (COL024)

Carlos A. Vásquez-Londoño¹, Gonzalo Arboleda², Maritza A. Rojas-Cardozo^{1*}

¹ Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de farmacia, Bogotá, Colombia. *Correo electrónico: marojasc@unal.edu.co

² Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá, Facultad de Medicina, Departamento de Patología - Instituto de Genética, Bogotá, Colombia.

Resumen

La muerte neuronal es un proceso central en patologías neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y de Parkinson. Las terapias existentes para su prevención o tratamiento son limitadas en la actualidad. La C2-ceramida es un análogo de la ceramida que induce cambios apoptóticos observados en determinadas enfermedades neurodegenerativas y es empleada en modelos in vitro para la evaluación del efecto neuroprotector de nuevos agentes terapéuticos, permitiendo el screening de extractos, fracciones y/o moléculas con potencial actividad neuroprotectora. Especies del género *Scutellaria* han demostrado ser biosintetizadoras de metabolitos secundarios con efecto neuroprotector. Sin embargo, la acción farmacológica de los metabolitos presentes en especies colombianas de *Scutellaria* está por ser explorada. Esta investigación tiene como objetivo evaluar en células CAD (Cath.-a-diferenciadas) la citotoxicidad y el efecto neuroprotector frente a la C2-ceramida de extractos, fracciones y metabolitos aislados de las raíces de la especie vegetal *Scutellaria incarnata*. Las estructuras de metabolitos aislados se elucidaron mediante resonancia magnética nuclear, espectrometría de masas y espectroscopia infrarroja. El pretratamiento con el extracto etanólico de la raíz (25-200 µg/mL), con las fracciones polares (25-200 µg/mL) y con los feniletanoides glicosilados incarnatósido y stachysósido C (12,5-50 µg/mL), exhibieron un efecto neuroprotector en células CAD expuestas a C2-ceramida, sin inducir citotoxicidad. Este es el primer reporte de aislamiento del incarnatósido y del efecto neuroprotector de ambos feniletanoides glicosilados. Este estudio fue apoyado por la Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá [proyecto 41529, 2018] y por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia-Colfuturo [Beca de Doctorado 647-2015].

Análisis conformacional de la proteína CBX4 canónica y su interacción con ligandos antioxidantes mediante simulación por dinámica molecular (COL019)

Janer Zabaleta*, Giomara Gomez, Antistio Alviz

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Cartagena, Colombia. *Correo electrónico: Jzabaletag@unicartagena.edu.co

Resumen

Las proteínas CBX de Polycomb regulan la expresión génica al dirigir el complejo represor de Polycomb 1 (PRC1) a sitios de las histonas H3K27me3 mediante sus cromodominios, desempeñando un papel clave en el desarrollo de diversas enfermedades como la presbiacusia y el cáncer. En este trabajo se evaluó mediante docking y dinámica molecular, los cambios conformacionales de la proteína CBX4 inducidos por antioxidantes y el inhibidor UNC3866. Para ello se realizó un estudio *in silico*, iniciando con la búsqueda de la estructura cristalográfica de CBX4, seguido por la identificación de ligandos con actividad comprobada. Los ligandos fueron optimizados mediante el método de Hartree-Fock 6-31G, utilizando Gaussian. Se realizó acoplamiento molecular usando Auto Dock Vina. Por último, se llevaron a cabo simulaciones por dinámica molecular con trayectoria de 1 microsegundo con análisis de energía libre, RMSD, RMSE, SASA, ROG y PCA usando el software AMBER. El acoplamiento molecular y la dinámica molecular determinaron que el oridonin y la curcumina son los ligandos con mayor afinidad y estabilidad conformacional incluso superior al inhibidor natural UNC3866, lo cual fue demostrado en los cálculos de energía libre. Además, los valores de RMSD (1,5-3 Å) indicaron un comportamiento similar de CBX4 a otras proteínas de Polycomb CBX2 y CBX7, validando el uso de dinámicas moleculares como un método robusto y ético para estudiar interacciones proteína-ligando. Se logró evaluar los cambios conformacionales de la proteína CBX4 mediante Dinámica Molecular. La curcumina y el oridonin demostraron una mayor afinidad y estabilidad conformacional con CBX4 en comparación con UNC3866, evidenciando su potencial como alternativas terapéuticas. Los resultados subrayan la eficacia de los métodos computacionales como un enfoque alternativo y ético frente a modelos murinos.

Empleo de esferoides como modelo para evaluar la acción anticancerígena de venenos de origen animal y moléculas derivadas. Revisión 2010-2022 (COL005)

Juan Daniel Hernandez Vargas

Escuela de Ciencias Básicas y Aplicadas Universidad de La Salle. Correo electrónico: juandanihv@gmail.com

Resumen

El cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial y regional, con índices de incremento elevados, siendo esta morbilidad un gran desafío para el sistema de salud. Actualmente se han encontrado fármacos oncológicos que cumplen con las especificaciones de las fases de esta patología, aunque presentan altos niveles de toxicidad ocasionados por poca especificidad. Para enfrentar esta problemática se ha dado relevancia a la búsqueda de terapias naturales que puedan ser útiles en el tratamiento de las neoplasias, entre estas destaca el veneno animal, ya que contienen moléculas bioactivas con inminente capacidad terapéutica en el tratamiento del cáncer. Recientemente, se ha optado por emplear modelos de cultivo 3D como los esferoides para evaluar moléculas con actividad anticancerígena, ya que tienen la capacidad de simular microambientes semejantes a entornos tumorales in vivo. Por lo que este estudio pretende establecer la importancia de los esferoides para la identificación de moléculas provenientes de venenos animales como alternativa terapéutica al cáncer, a partir de una revisión sistemática comprendida entre 2010-2022. Se realizó una búsqueda y selección de artículos a partir de la guía PRISMA en cuatro bases de datos con los términos: "Spheroid" y "Venom". Se seleccionaron los artículos según criterios de inclusión y exclusión, para posteriormente organizar la información relevante para la revisión. La búsqueda arrojó 81 artículos y se definieron 14 como base para la construcción de la revisión. Sobresalieron las moléculas derivadas de venenos de serpientes, arañas, escorpiones y abejas. Estas moléculas fueron evaluadas en diversos métodos de obtención de esferoides y destacaron efectos citotóxicos que inhibieron la formación de esferoides e incluso afectaron procesos de invasión y migración. La evidencia encontrada sugiere que los modelos de cultivo 3D en combinación con sustancias derivadas de venenos representan una estrategia preclínica prometedora para el desarrollo de terapias alternativas.

Resultados del ensayo fenotípico *in vitro* para la búsqueda de nuevos agentes antimaláricos en el Departamento de Farmacia (COL044)

Jorge Enrique Hernández-Carvajal ^{1,2}, Maritza Rojas-Cardozo ¹, Pilar Ester Luengas-Caicedo ¹, Yoshie Hata-Uribe ^{1*}

¹Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. *Correo electrónico: yahatau@unal.edu.co

²Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali.

Resumen

La malaria es la enfermedad parasitaria más importante del mundo. En el 2022 se estimaron 249 millones de casos y en el periodo comprendido entre 2020 y el 2022 se calcularon 2.1 billones de casos de malaria y 11.7 millones de muertes [1]. Medicamentos, seguros y efectivos para tratar lograr su control y eventual eliminación son indispensables [2] y la necesidad de encontrar nuevos fármacos sólo puede suplirse mediante el proceso de investigación y desarrollo (I&D). Una de sus primeras etapas es la realización de tamizajes. Para el caso particular de enfermedades parasitarias, el tamizaje fenotípico *in vitro* ha sido mucho más exitoso que otras aproximaciones, como lo es el uso de dianas farmacológicas [2]. En el presente trabajo se presenta parte de la experiencia que el Departamento de Farmacia, de la Universidad Nacional de Colombia ha tenido en el tamizaje de plantas medicinales, con usos etnofarmacológicos relacionados con la malaria, para encontrar compuestos y/o extractos, mediante el ensayo fenotípico de inhibición del desarrollo de *Plasmodium falciparum in vitro*. Se presentan, en particular, dos ejemplos, *Abuta grandifolia* y *Curarea toxicifera*, utilizadas en la región amazónica para el tratamiento de fiebres, que mostraron actividades promisorias en el tamizaje fenotípico y lograron ser seleccionadas para realizar estudios posteriores, dentro del proceso de I&D, con el fin de avanzar a la potencial estandarización de su extracto.

HaCat and human fibroblast spheroid: strategies to reduce the fetal bovine serum in cell culture (COL002)

Lohanna Luciyarla Kakuda ^{1*}, Jéssica Nascimento da Silva Pinto ¹, Newton Andreo-Filho ¹, Vania Rodrigues Leite-Silva ^{1,2}, Patricia Santos Lopes ¹

¹Instituto de Ciências Ambientais Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, 09913-030, Brazil. *E-mail: lohanna.kakuda@unifesp.br

²The University of Queensland, Australia

Summary

While monolayer cell culture offers valuable insights into cell behavior, it fails to replicate crucial *in vivo* conditions, such as cell-cell and cell-extracellular matrix interactions. To address this limitation and reduce reliance on animal experimentation, emerging models with greater physiological relevance, such as 3D cell culture, particularly spheroids, are garnering attention. Spheroids, formed by single or multiple cell types, offer enhanced relevance by facilitating those interactions. Despite the progress achieved with spheroids, there is a pressing need to move away from animal-derived reagents, notably Fetal Bovine Serum (FBS), due to ethical concerns and practical limitations. In this study, we propose a co-culture spheroid system involving HaCaT and human fibroblast cells, formed through auto-aggregation in non-adherent U-bottom shaped plates. To address FBS dependency, we systematically reduce its concentration (from 10% to 2.5%) during spheroid formation and evaluate resultant structures quality using viability parameters while investigating the potential delay in spheroid formation due to Fetal Bovine Serum deprivation. The results indicate the feasibility of the auto-assembling spheroid formation process, with a noted retardation in the absence of Fetal Bovine Serum. Different approaches have been made to optimize the spheroids' formation using smaller Fetal Bovine Serum concentrations. The integration of these approaches could lead to the replacement of animal experimentation and more reproducible *in vitro* research.

Efecto del tratamiento de *Mycoplasma* sp. en la proliferación y citotoxicidad de la línea celular de Fibroblastos L-929 (COL027)

María Camila Ferrucho Calle ^{1*}, Ruben Dario Godoy Silva ¹, Ana Isabel Ramos Murillo ^{1,2}

¹ Grupo de investigación en Procesos químicos y bioquímicos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia. *Correo electrónico: mferrucho@unal.edu.co

² Departamento de Investigación y Desarrollo, Intek Group y SafeLab, Bogotá D.C., Colombia.

Resumen

Los cultivos celulares en las industrias cosméticas y farmacéuticas requieren un control estricto de parámetros, especialmente para garantizar la ausencia de *Mycoplasma* sp. En caso de contaminación, *Mycoplasma* sp. puede afectar la viabilidad celular, alterar características genómicas y producir resultados erróneos en ensayos de citotoxicidad y producción de biofármacos. Por ello, este estudio evaluó el efecto del tratamiento para erradicar *Mycoplasma* sp. en células L-929 contaminadas. Se utilizaron tres métodos de detección (PCR, luminiscencia bioquímica y tinción DAPI) para detectar *Mycoplasma* sp. y determinar la concentración necesaria del tratamiento. Además, se comparó la velocidad de crecimiento de las células tratadas y se realizó un ensayo de viabilidad con diferentes concentraciones de SDS para analizar la respuesta tras el tratamiento. Se detectó contaminación en células L-929 y se confirmó la efectividad de los tratamientos con Plasmocin® y Mycoplasma Removal Agent (MRA) para erradicar el patógeno. A pesar del éxito de los tratamientos, la presencia de micoplasma provocó disminución en la velocidad de crecimiento de las células, particularmente entre 120 y 144 horas. Durante este período, se observó una diferencia en la velocidad de crecimiento en las células tratadas con MRA, mientras que las tratadas con Plasmocin® lograron recuperar su velocidad de crecimiento. Además, el ensayo de viabilidad celular indicó que el tratamiento proporcionó protección adicional contra los efectos de la toxicidad celular, especialmente en concentraciones más bajas de SDS. Sin embargo, se observaron ligeros cambios en la morfología celular, lo que indica alteraciones irreversibles debido a la contaminación a pesar de la eficacia del tratamiento. Finalmente, estos resultados permitieron la selección de un método rápido para el uso rutinario en la detección de micoplasma en el laboratorio y la posibilidad de usar células tratadas en futuros estudios, considerando que puede conllevar a variaciones en los resultados de citotoxicidad y proliferación celular en respuesta al tratamiento.

***In vitro* study of the genotoxic and antigenotoxic effects against UVB radiation of bioactive compounds from *Rosa centifolia* (COL003)**

Silvia Ximena Barrios ^{1*}, Johanna Sierra Lady ², Raquel Elvira Ocazonez ², Elena Stashenko ², Maria Pilar Vinardell ³, Jorge Luis Fuentes ¹

¹Laboratorio de Microbiología y Mutagénesis Ambiental, Grupo de Investigación en Microbiología y Genética, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia. *E-mail: silviabarrioslmmauis@gmail.com

²Laboratorio de Cromatografía, CROM-MASS, Centro de Investigación en Biomoléculas, CIBIMOL, Escuela de Química, Facultad de Ciencias Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

³Departamento de Bioquímica y Fisiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universitat de Barcelona, España

Summary

Photoprotection is a preventive strategy to defend human skin against cancer and photoaging. The use of sunscreens is among the most popular strategies in photoprotection. Plants are sources of sunscreen ingredients that prevent cellular mutations involved in skin cancer and aging. In this work, the genotoxic and antigenotoxic effects against UVB radiation of a *Rosa centifolia* hydroalcoholic extract (RCHE) and two major compounds into extract (kaempferol and kaempferol 3 glucoside) were studied. The chemical composition of the RCHE was determined using UHPLC-ESI⁺-Orbitrap-MS. Genotoxicity and antigenotoxicity against UVB radiation of the RCHE (46.8 and 750 µg/mL), kaempferol (31.2 and 500 µg/mL) and kaempferol 3 glucoside (19.7 and 315 µg/mL), were studied in MRC5 human fibroblasts using Comet assays. The major compounds into RCHE were as follows: quercetin-3-rhamnoside (49 ± 2 µg/mL), kaempferol-3-glucoside (70 ± 12 µg/mL), kaempferol-rhamnoside (64 ± 8 µg/mL), quercetin (160 ± 26 µg/mL), and kaempferol (146 ± 5 µg/mL). The RCHE resulted genotoxic in human fibroblasts only at 750 µg/mL; while this extract was significant antigenotoxic at concentrations between 46.8 and 187.5 µg/mL. Kaempferol exhibited genotoxicity at concentrations up to 500 µg/mL, while significant antigenotoxic effects were observed between 31.2 and 125 µg/mL. On the other hand, kaempferol-3-glucoside resulted not genotoxic, but was antigenotoxic at all evaluated concentrations. Our study showed the antigenotoxic properties of the RCHE and their phytochemicals (kaempferol and kaempferol-3-glucoside) against UVB radiation. Therefore, these results support the potential of *Rosa centifolia* phytochemicals as ingredients for sunscreen formulations.

Evaluating *in vitro* the antigenotoxic and DNA repair-enhancing potential of *Posoqueria latifolia* flower extract (COL004)

Silvia Ximena Barrios ^{1*}, Johanna Sierra Lady ², Raquel Elvira Ocazonez ^{2**}, Elena Stashenko ^{2***}, Maria Pilar Vinardell ³, Jorge Luis Fuentes ^{1****}

¹Laboratorio de Microbiología y Mutagénesis Ambiental (LMMA), Grupo de Investigación en Microbiología y Genética (COL0083849), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander (UIS), Bucaramanga, Colombia. *E-mail: silviabarrioslmmauis@gmail.com, ****E-mail: jfuentes@uis.edu.co

²Laboratorio de Cromatografía, CROM-MASS, Centro de Investigación en Biomoléculas, CIBIMOL, Escuela de Química, Facultad de Ciencias Universidad Industrial de Santander (UIS), Bucaramanga, Colombia. **E-mail: relocaz@uis.edu.co, ***E-mail: elenastashenko@gmail.com

³Departamento de Bioquímica y Fisiología, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universitat de Barcelona, Barcelona 08028, Spain. E-mail: mpvinardellmh@ub.edu

Summary

Introduction: Skin overexposure to solar radiation has been a serious public health concern because of its potential carcinogenicity. Therefore, preventive protection strategies using DNA protective agents are essential to counteract the harmful effects of solar radiation. Plants may be a source of photoprotective compounds. In this context, phytochemicals that modulate DNA repair mechanisms against UV radiation emerge as promising agents for mitigating these adverse effects. This work evaluated the antigenotoxic effects against UVB radiation of a *Posoqueria latifolia* flower extract (PLFE) and their potential to modulate DNA repair post-irradiation. The chemical composition of the PLFE was determined using UHPLC-ESI+-Orbitrap-MS. We studied the genotoxicity and antigenotoxicity against of PLFE (between 250 to 750 µg/mL) in MRC5 human fibroblasts using Comet assay. Cells were irradiated (875 mJ/cm²) using irradiation chamber BS-02 with a UV radiation controller UV-MAT (Dr. Grobel UV-Elektronik GmbH, Etlingen, Germany). The PLFE ability for stimulate DNA repair post-irradiation of this PLFE was evaluated using the Comet technique. The major compounds in the extract of *P. latifolia* were as follows: chlorogenic acid (35 ± 1 µg/mL), ecdysterone (64 ± 8 µg/mL), rhamnetin-rutinoside (17 ± 1 µg/mL), cis-resveratrol-diglucoside (140 ± 7 µg/mL), and trans-resveratrol-diglucoside (280 ± 16 µg/mL). The PLFE was not genotoxic at the studied concentrations, obtaining in all the doses evaluated a genetic damage

index lower than 1.56 ± 0.09 . However, it showed antigenotoxic effect between 250 and 375 $\mu\text{g}/\text{mL}$, reducing genetic damage caused by UVB in 62% and 58%, respectively. The PLFE prepared at 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ increased DNA repair post-irradiation in human fibroblasts. The PLFE showed a significant antigenotoxic effect against UVB radiation and stimulated DNA repair after irradiation. Thus, its phytochemicals could be used as an ingredient in a sunscreen formulation.

Use of the alkaline comet assay for detecting photogenotoxic chemicals: An *in vitro* comparative analysis (COL023)

Elisabet Teixidó¹, Adriana S Maddaleno², Eloi Reig^{1,2}, Marta Aznar^{1,2}, Montse Mitjans², M. Pilar Vinardell^{2*}

¹ GRET - Toxicologia, Departament de Farmacologia, Toxicologia i Química Terapèutica, Universitat de Barcelona

² Fisiologia, Departament de Bioquímica i Fisiologia, Universitat de Barcelona. *E-mail: mpvinardellmh@ub.edu

Summary

Several chemical compounds used in pharmaceuticals and cosmetics have been reported to cause phototoxic side effects. Therefore, regulatory authorities require an assessment of the phototoxic potential of newly developed drugs and cosmetic products. Current legislation for photosensitive products, such as sunscreens, mandates ensuring safety against photogenotoxicity. Due to the limitations of animal models and recent international regulations emphasizing ethical considerations, there is an urgent need to develop *in vitro* assays to identify potential human safety hazards. The objective of this study was to develop a reliable and fast *in vitro* assay for photogenotoxicity testing using a commercial line of human keratinocytes (HaCat). Five chemicals with well-known toxic properties—sodium dodecyl sulfate, chlorpromazine, benzophenone-3, 8-methoxypsoralen, and chlorhexidine—were tested. Cells were incubated with the test compounds for 1 hour and irradiated with 4 J/cm² UV-A. After irradiation, treatment was removed and fresh medium was added. Cell viability was measured using the MTT and LDH assays, and a comet assay was performed 24 hours after irradiation at non-cytotoxic concentrations of the compounds and their vehicles, using a medium-high throughput format with 8 minigels per slide. Methyl methanesulfonate, a known alkylating agent, was used as a positive control for the comet assay. Sodium dodecyl sulfate and chlorhexidine were classified as non-phototoxic, while the other tested chemicals showed PIF values above 5 or MPE values above 0.15. None of the chemicals showed increased DNA damage 24 hours after irradiation, likely due to DNA repair during this period. As experimental design, including treatment conditions, can impact results, further studies are underway to establish the optimal conditions for detecting photogenotoxic chemicals. This assay shows promise as a straightforward method for identifying both photosensitizers and photogenotoxic chemicals, potentially enhancing the safety assessment of new pharmaceuticals and cosmetic products.

Estudio de metaloproteinasas como indicadores de fotosensibilidad *in vitro*: hacia una discriminación precisa entre sustancias fotoirritantes y fotoalérgicas (COL020)

M Pilar Vinardell*, Adriana S Maddaleno, Montserrat Mitjans

Fisiología, Departamento de Bioquímica y Fisiología, Universidad de Barcelona, España. *Correo electrónico: mpvinardellmh@ub.edu

Resumen

Algunas de las sustancias químicas presentes en diversos productos (cosméticos, medicamentos, fragancias...) pueden inducir reacciones de fotosensibilidad desencadenadas por la exposición a la radiación ultravioleta. Entre ellas, la fotoirritación se manifiesta como una reacción aguda tras la aplicación tópica o sistémica de una sustancia química, combinada con la exposición a radiación ultravioleta. Otra manifestación es la fotoalérgia, que se origina cuando una sustancia, después de la exposición a la luz ultravioleta, forma un hapteno produciendo una hipersensibilidad retardada de tipo IV. Actualmente no existen métodos alternativos a la experimentación animal para discriminar entre sustancias fotoirritantes y fotoalérgicas. Aunque son menos estudiadas que otras alteraciones producidas por la luz ultravioleta, también son importantes y representan un problema de salud pública en aumento [1]. Además, el desarrollo de nuevas técnicas *in vitro* es crucial, dado que desde 2013, las pruebas de ingredientes y productos acabados cosméticos en animales de experimentación están prohibidas tanto en la Unión Europea como en otros países. En este estudio, presentamos una técnica *in vitro* basada en la guía de la OCDE 432 [2], para discriminar entre sustancias fotoirritantes y fotoalérgicas mediante la identificación de metaloproteinasas como marcadores. Para ello, expusimos queratinocitos humanos HaCaT a diferentes sustancias con carácter fotoirritante o fotoalérgico conocido, seguido de una exposición a 4 J/cm² de luz UVA y se determinó la viabilidad celular. Los sobrenadantes se analizaron con una matriz multiplex con el objetivo de identificar y medir semicuantitativamente los niveles de metaloproteinasas y estudiar su utilidad como marcadores para discriminar entre fotoirritantes y fotoalérgicos. Los resultados indicaron que las sustancias fotoalérgicas incrementaban la secreción de MMP-1 y MMP-10, al contrario que la sustancia fotoirritante, lo que sugiere que estas metaloproteinasas podrían ser potenciales marcadores para tal discriminación.

Avaliação fotoprotetora de flavonóides *in vitro* (COL030)

Ana Maria Santos-Oliveira ^{1*}, Anamaria Mendonça-Santos ², José Adão Carvalho-Nascimento-Júnior ¹, Cláudio Carvalho-Santana-Júnior ², Paula dos-Passos-Menezes ^{2,3}, Mairim Russo-Serafini ^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil. *E-mail: anaoliveira.farmacia@gmail.com

² Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brasil.

³ SejaPhD, Brasil.

Summary

Os testes *in vivo* são considerados padrão ouro para avaliação da atividade fotoprotetora, contudo envolvem a exposição dos indivíduos à radiação ultravioleta e apresentam como desvantagens, alto custo e limitações éticas. Sendo assim, os métodos *in vitro* surgem como uma alternativa econômica e ética para triagem de formulações fotoprotetoras e fornecem resultados padronizados sem a necessidade de testes em humanos. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito fotoprotetor de formulações contendo flavonóides *in vitro*. Para tal, foi utilizado o teste de fotodegradação do resveratrol que analisa a capacidade das amostras em prevenir a fotodegradação do resveratrol sob radiação UV. Para o experimento, foram utilizadas placas de Petri protegidas da luz, exceto na parte superior. Na área desprotegida, foram aplicados homogeneamente 300 mg das formulações semissólidas (veículo, silimarina, silimarina + dióxido de titânio, hesperetina e hesperetina + dióxido de titânio). Dentro das placas de Petri, adicionou-se 10 mL de solução de resveratrol (10 µg/mL). Como o resveratrol é fotoinstável, a radiação UV que atravessar a formulação aplicada na placa provocará a degradação do composto. Nos tempos de 10 e 60 minutos, o teor de resveratrol na solução foi quantificado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, com método previamente validado. Uma placa de Petri sem formulação foi usada como controle (sem proteção) para garantir a eficiência do método. A fotoproteção *in vitro* foi determinada em triplicata e calculada pela relação entre a concentração de resveratrol na amostra e a concentração de resveratrol no controle. Como resultado, diferenças significativas ($p < 0,001$) foram observadas para todas as formulações em comparação com o controle negativo e o veículo nos períodos de 10 e 60 minutos, indicando que as formulações apresentaram efeito fotoprotetor frente as radiações UVA e UVB. Portanto, os flavonóides silimarina e hesperetina possuem efeito fotoprotetor *in vitro*.

Implementación de la determinación del tamaño de partícula (TP) por microscopía electrónica de barrido como método para realizar la exención del ensayo de toxicidad aguda por inhalación (TAI) OECD 433 de sustancias sólidas (COL016)

Edwin León-Mora*, Mariano Pacheco-Salazar

Laboratorio de Ensayos Biológicos, Universidad de Costa Rica. Correo electrónico: eflm75@gmail.com

Resumen

Uno de los temas más importantes en la toxicología regulatoria actual es demostrar a los reguladores que no es necesario realizar un ensayo toxicológico debido a que este no es necesario para la evaluación de riesgo por las características intrínsecas de una sustancia, esto con un criterio que brinde seguridad al tomador de decisiones que la exención de un ensayo está debidamente justificada. Las consideraciones sobre el tamaño de las partículas (determinadas, por ejemplo, mediante pruebas de granulometría, OECD TG 110) pueden ser útiles para determinar si es necesario o no realizar ensayos de TAI debido a que el tamaño de partícula supera los $4\ \mu\text{m}$ de masa media aerodinámica (MMAD) o los $100\ \mu\text{m}$ de tamaño de partícula pues no sería posible que la sustancia pudiera ingresar de forma uniforme en las vías respiratorias. Se siguió la metodología descrita en el documento guía 39 (OECD, 2009) documento de orientación sobre pruebas de toxicidad aguda por inhalación, para determinar el MMAD teórico y la determinación del tamaño de partícula se realizó usando un microscopio electrónico de barrido donde se tomaron imágenes de las partículas sólidas y estas fueron medidas su tamaño de partícula por el equipo. Con la implementación de la determinación del tamaño de partícula de las muestras sólidas se ha evitado realizar 6 ensayos de toxicidad aguda por inhalación pues la muestra presentaba partículas mayores de $100\ \mu\text{m}$, por lo que al calcular el MMAD teórico este era mayor de $4\ \mu\text{m}$ y según los criterios de la norma OECD 433 el ensayo no debía ser ejecutado. Un resultado importante es que al no realizar este ensayo no se utilizaron al menos 66 animales. Este método puede ser utilizado en un esquema de toxicidad por evidencia y así poder justificar el no realizar ensayos con animales para la toxicidad aguda por inhalación.

Innovative development of inclusion complexes with microbiological and toxicological assessment free of animal tests (COL038)

Ana Maria Santos-Oliveira ^{1*}, Anamaria Mendonça-Santos ², José Adão Carvalho-Nascimento-Júnior ¹, Cláudio Carvalho-Santana-Júnior ², Paula dos-Passos-Menezes ^{2,3}, Mairim Russo-Serafini ^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil. *E-mail: anaoliveira.farmacia@gmail.com

² Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brasil.

³ SejaPhD, Brasil.

Summary

Farnesol has demonstrated potential as an antibacterial agent in inhibiting the proliferation of certain microorganisms. Despite that, farnesol presents limited water solubility and inadequate retention, which has hindered its application in medicine. Recent advancements in pharmaceutical technology, such as inclusion complexes, have provided solutions to address the challenges related to its limitations. An essential aspect of introducing new drugs to the market is ensuring their safety. *The Tenebrio molitor* model has emerged as a reliable tool for investigating the impacts of drugs and obtaining initial insights into LD50 (median lethal dose) values. Therefore, this study aimed to prepare the farnesol inclusion complex, proposing its toxicity, and evaluating its *in vitro* antibacterial activity. Thus, farnesol (FAR) and 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) compounded the inclusion complex, prepared by the freeze-drying method. *T. molitor* larvae were used in toxicity tests. The inclusion complex and free FAR were solubilized in saline and injected on the hemocoel by administering each compound on the larvae dorsal side, and mortality was recorded daily for five days. For the antibacterial assay against *Staphylococcus aureus* ATCC, it was performed the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and defined as the lower concentration that inhibits the bacterial growth. Free FAR presented the toxic and LD50 doses as 200 mg/kg and 25mg/kg, respectively, and the inclusion complex presented a toxic dose of 1000 mg/kg and an LD50 of 350mg/kg. The inclusion complex exhibited a higher MIC (8 μ g/mL)

against *S. aureus* ATCC 25923 compared to free FAR (16 µg/mL). Thus, HP-β-CD provided a higher improvement of the FAR solubility and reduced the volatile loss of the essential oil. Beyond that, the toxicity results proposed the higher safety of the inclusion complex compared to the free FAR, suggesting that the inclusion complex could be a better source for the pharmaceutical industries to develop new drugs.

Tiempo de observación de 6 horas en el ensayo de neutralización de letalidad para la eficacia preclínica de antivenenos ofídicos (COL031)

Gina Durán*, Gabriela Solano, Aarón Gómez, Daniel Cordero, Adriana Sánchez, Mauren Villalta, Melvin Sánchez, Cecilia Díaz, José María Gutiérrez, Guillermo León

Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. *Correo electrónico: gduranblanco@gmail.com

Resumen

El ensayo de neutralización de letalidad en ratones es el estándar de oro para evaluar la eficacia preclínica y el cumplimiento de especificaciones de antivenenos ofídicos. Normalmente, los resultados de este ensayo se calculan a partir de la cantidad de ratones que sobreviven durante las 24/48 horas posteriores a la inyección de una dosis letal de veneno mezclada con diferentes cantidades del antiveneno que está siendo evaluado. Debido al sufrimiento animal, este ensayo es candidato para ser reemplazado por alternativas in vitro, o mejorado mediante la reducción del número de animales utilizados, la introducción de analgesia y el refinamiento de la prueba mediante la disminución del tiempo de observación. El objetivo principal de este estudio es reducir el sufrimiento animal asociado a este ensayo mediante la disminución del tiempo de observación. Para eso, los valores de dosis letal media (DL_{50}) de varios venenos y de dosis eficaz media (DE_{50}) de dos antivenenos fueron estimados usando tiempos de observación de 6, 24 y 48 horas. Se encontró una fuerte correlación entre los valores de DL_{50} y DE_{50} estimados en los tres tiempos de observación. La implementación del tiempo de observación de 6 horas no compromete la fiabilidad de los resultados. Por lo tanto, este estudio representa una contribución importante al refinamiento de los ensayos preclínicos de antivenenos ofídicos y puede servir como base para el desarrollo de métodos alternativos más éticos para la evaluación de antivenenos, avanzando en la reducción del sufrimiento animal en la investigación preclínica. No obstante, la reducción del tiempo de observación debe validarse para cada veneno y antiveneno antes de su implementación rutinaria.

Sustitución de la prueba de pirógenos en conejos por el ensayo de endotoxinas bacterianas para la evaluación de antivenenos ofídicos (COL032)

Gabriela Solano*, Aarón Gómez, Guillermo León

Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. *Correo electrónico: gabriela.solano@ucr.ac.cr

Resumen

Los antivenenos ofídicos son inmunobiológicos de administración parenteral, por lo que su calidad microbiológica debe ser estrictamente controlada. Tradicionalmente, la evaluación del contenido de endotoxinas bacterianas en antivenenos se ha realizado mediante la prueba de pirógenos en conejos. Sin embargo, el mejoramiento de la sensibilidad en los reactivos para el ensayo de endotoxinas bacterianas por el método de LAL Gel Clot brindan la oportunidad de implementar un enfoque más responsable y ético en el uso de animales de experimentación, y promover los principios de Reemplazo, Reducción y Refinamiento. La comparación entre la prueba de pirógenos en conejos y la prueba de endotoxinas bacterianas por LAL Gel Clot, evidenció que ambos métodos no difieren significativamente en su capacidad para determinar concentraciones peligrosas de endotoxinas en solución salina estéril o antivenenos de origen equino, y que los antivenenos no contienen sustancias interferentes con ninguno de los dos ensayos, por lo que por el ensayo de LAL Gel Clot puede sustituir la prueba de pirógenos en conejos. Adicionalmente, la comparación de la prueba de LAL Gel Clot con la de LAL Recombinante sugiere que las propiedades analíticas de ambas metodologías permiten la adecuada determinación de endotoxinas en antivenenos ofídicos. Así, la prueba de LAL Recombinante se convierte en una valiosa alternativa que sustituye el uso de animales.

Wound healing assay to evaluate corneal damage reversibility in skinethic HCE model (COL033)

Martina Daniela Benedetti ^{1,2*}, Mariela Lenze ^{1,2}, Julieta Roco ^{1,2}, Romina Martínez ³, Vanja Dakic ^{4,5}, Rodrigo De Vecchi ^{4,5}, María Laura Gutiérrez ^{1,2}

¹ CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) Argentina. *E-mail: martina_benedetti97@hotmail.com

² Instituto de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Argentina.

³ Hospital Dr Julio Méndez, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

⁴ L' Oréal Pesquisa e Inovação, Rio de Janeiro, Brasil.

⁵ Episkin Brasil Biotecnologia, Rio de Janeiro, Brasil.

Summary

Evaluation of chemicals for ocular toxicity is crucial for global product registration and labeling, ultimately safeguarding consumers across all sectors. The traditional Draize rabbit test, used for categorizing irritation severity, is deprecated due to ethical concerns, in addition to low reproducibility and species differences. Despite big advancements in alternative methods such as OECD TG 492 and 492B, a robust *in vitro* test for assessing damage reversibility remains a critical need. Developing an *in vitro* model for corneal wound healing could address these challenges, benefiting both regulatory compliance and testing ocular therapeutic products. The SkinEthic HCE model presents a promising solution, offering a 3D reconstructed tissue that mimics the structure, morphology, and functionality of the human cornea epithelium. Meanwhile, cell migration emerges as a pivotal factor in corneal wound healing. Our study aimed to investigate whether the SkinEthic™ HCE model could effectively assess damage reversibility following exposure to various reference chemicals known to induce different levels of ocular damage. To achieve this objective, a wound healing assay was implemented on the SkinEthic HCE model, incorporating both mechanical damage and chemical exposure to reference substances under the hypothesis that the *in vivo* healing capacity is related to the *in vitro* migration capacity. Cytotoxicity assays and histological tissue sections of the corneas at 0, 48, and 96 hours provided a detailed documentation of the wound closure process. In summary, the ability to observe damage reversibility in this three-dimensional epithelial model suggests a potential correlation with the four UN-GHS categories.

The obtained results highlight the potential of this innovative strategy as the initial step toward a novel human-relevant *in vitro* method for evaluating ocular damage, capable of distinguishing reversal times of the lesion and facilitating classification into all relevant categories without animal use.

Modelo experimental alternativo de indução de inflamação em larvas de *Zophobas morio* (COL041)

Luiza Gabrielle Assunção Nunes ¹, Camila Rangel Santos ¹, Anna Victória Lisboa Menezes de Souza ¹, Carina Carvalho dos Santos ¹, Dominique Mesquita e Silva ², Juliana de Carvalho da Costa ², Izabel Almeida Alves ^{1,3*}

¹ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil. *E-mail: izabel.alves@ufba.br

² Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

³ Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Estado da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

Summary

O crescente apelo por métodos experimentais alternativos ao uso de animais vem de encontro ao panorama internacional que fomenta e privilegia o princípio dos “3Rs” (Reduction, Refinement and Replacement); recomendando que mamíferos quando possível devem ser substituídos por animais com sistema nervoso menos desenvolvido, como invertebrados [1,2]. Diante disso, a utilização de larvas de *Zophobas morio* se torna uma alternativa promissora em pesquisas experimentais, visto que o sistema imune tem similaridades com dos mamíferos [3]. Foram utilizados 18 grupos (n=18) de larvas de *Z. morio*, e inoculação de 10µl de solução carragenina (0,5%); dexametasona (25µg/mL) e salina a 0,9%; nos tempos: 30min, 60min, 120min, 24h, 48h e 72h. A linfa foi extraída e analisada por microscopia para contagem de hemócitos. O perfil inflamatório foi determinado pelo quantitativo de hemócitos presentes nas amostras de linfa. Os grupos tratados com carragenina apresentaram valores médios (hemócitos/mL): 1458±671; 2467±321; 3158±1644; 7292±152; 8125±1426; 20808±9571, nos respectivos períodos de tempo supracitados. Já os grupos tratados com dexametasona apresentaram médias: 2017±428; 792±215; 1142±232; 875±499; 617±76; 4783±614, enquanto os grupos tratados com salina apresentaram médias: 2525±888; 3775±895; 3208±842; 2342±893; 3008±232 e 2767±52. A análise estatística por ANOVA de duas vias revelou significância (p<0,0001) na interação entre tratamentos e períodos de tempo. Em suma, verificou-se que a carragenina atuou como agente inflamatório, aumentando a quantidade de hemócitos nas larvas ao longo do tempo. Nos grupos de larvas tratados com dexametasona, houve redução esperada nas células de defesa, enquanto o grupo tratado

com solução salina não mostrou alterações na contagem de hemócitos. Conclui-se que a carragenina foi capaz de induzir inflamação nas larvas, diferentemente de dexametasona e salina que apresentaram diminuição e manutenção na contagem de hemócitos, respectivamente. Com isso, verifica-se que o experimento se encontra apto a ser testado frente a novas substâncias.

***Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae) como huésped alternativo para estudiar la patogenicidad de *Candida auris* (COL035)**

Milena Izabel dos Santos Rodrigues ¹, Fabíola Lucini ¹, Luana Rossato ¹, Izabel Almeida Alves ^{2*}

¹ Facultad de Ciencias de la Salud-FCS, Universidad Federal de Grande Dourados, Dourados, Brasil.

² Universidad Federal de Bahia (UFBA). *Correo electrónico: izabel.alves@ufba.br

Resumen

Candida auris es un hongo multiresistente que representa una amenaza significativa para pacientes inmunocomprometidos y puede causar brotes en entornos hospitalarios. Los estudios in vivo son esenciales para comprender la patogenicidad y la resistencia antifúngica de *C. auris*. *Tenebrio molitor* es un modelo de infección ventajoso por ser fácil de criar en laboratorio, tener un sistema inmunológico bien caracterizado y permitir estudios de patogenicidad y respuesta inmune con costos relativamente bajos comparados con otros modelos. Este estudio investigó el potencial de la larva de *Tenebrio molitor* como modelo alternativo para estudiar los mecanismos de patogenicidad y virulencia de *C. auris*. Se utilizaron nueve cepas diferentes de *C. auris* de varias regiones: *C. auris* CBS 10913, *C. auris* Venezuela 150/23, *C. auris* Sudáfrica 155/23, *C. auris* Londres 156/23, *C. auris* Países Bajos 157/23, *C. auris* Kuwait 158/23, *C. auris* Corea 159/23, *C. auris* España 160/23 y *C. auris* Omán 161/23. Los experimentos incluyeron pruebas de supervivencia en larvas inoculadas con 1×10^4 , 1×10^6 y 1×10^8 de la cepa estándar, evaluación de la producción de biofilm, examen de melanización, recuento de colonias para determinar la carga tisular, análisis histopatológico y comparación de la virulencia de las diferentes cepas. Los resultados mostraron que la tasa de mortalidad de las larvas de *T. molitor* aumentó con la concentración del inóculo de *C. auris*, presentando diferencias significativas en comparación con el grupo de control con PBS. En cuanto a la virulencia, las cepas de Kuwait, Omán y Londres causaron mayor mortalidad en las larvas, con tasas de 100%, 93% y 87%, respectivamente, 24 horas después de la infección. Todas las cepas analizadas demostraron capacidad de formación de biofilm, con variaciones de virulencia entre los aislados de diferentes regiones geográficas. El análisis histopatológico confirmó la invasión de los tejidos larvales por *C. auris*. Además, se observó un aumento en la melanización de las larvas infectadas, lo que indica la activación del sistema inmunológico del insecto. Estos resultados destacan la eficacia de los modelos de inverte-

brados para evaluar la patogenicidad de *C. auris* y proporcionan información valiosa sobre la interacción patógeno-hospedador y la virulencia de este hongo emergente. Este estudio contribuye a la comprensión de la infección por *C. auris* y puede ayudar en el desarrollo de terapias más eficaces contra esta grave patología.

Evaluación *in vitro* de la seguridad biológica de productos cosméticos y de cuidado personal (COL040)

Alejandra Acosta Peláez ^{1*}, Ana María López Villamizar ², Daniel Felipe Pinilla Arroyo ², Rubén Darío Godoy Silva ², Ana Isabel Ramos Murillo ¹

¹ ntek Group SAS – SafeLab, Bogotá, Colombia. *Correo electrónico: alacostape.w@gmail.com

² Departamento de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Resumen

Convencionalmente, se han usado modelos animales para evaluar la seguridad de productos químicos con el fin de determinar efectos adversos para los humanos. Sin embargo, el dilema ético detrás de estas prácticas de experimentación ha resaltado la necesidad de desarrollar alternativas que reduzcan en lo posible el testeo en animales. Se ha abordado esta problemática mediante la implementación de ensayos *in vitro* en cultivos celulares, basados en la medición de la actividad metabólica de las células tras el contacto con la muestra cuya reactividad se desea evaluar, con la intención de reemplazar ensayos de Draize realizadas *in vivo* para evaluar irritación dérmica, además de estudios de toxicidad aguda. Estas medidas han representado diversas oportunidades de mejora para la estandarización de estos protocolos, incluyendo: la insolubilidad de muestras en soluciones acuosas y la reactividad de muestras con MTT. Se empleó la línea celular CCL-1 NTCN clon 929 para realizar los ensayos de citotoxicidad de contacto directo e indirecto con la muestra, utilizando los reactivos MTT (bromuro de 3-(3,4-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) y resazurina para observar la actividad metabólica de las células como marcador de viabilidad celular. Se concluyó que es más conveniente emplear resazurina en lugar de MTT en casos donde el reactivo requiere lectura de absorbancia, pues el pigmento de trazas de la muestra interfiere con los valores de absorbancia del formazán producto del MTT metabolizado, mientras que el producto obtenido de la resazurina al ser medido por fluorescencia reduce este error, sin mencionar que el MTT es más reactivo con las muestras para el tiempo en el que se hace la lectura. Por otra parte, es más favorable el uso de MTT en pruebas cualitativas de citotoxicidad por contacto indirecto, ya que al formar cristales insolubles permite observar el halo de reactividad a través del agar. Adicionalmente, se halló un posible abordaje para evaluar la citotoxicidad de muestras insolubles en medios acuosos, obteniendo aproximaciones del grado de citotoxicidad con “extractos” de las muestras, pues representaba una dificultad no poder preparar diluciones de la muestra en medio de cultivo sin la separación en dos fases imposibilitando el contacto entre las células y la muestra.

Potencial sensibilizante dérmico de formulaciones cosméticas empleando KeratinoSens™ (COL006)

Liseth Yamile Diaz Rojas

Belcorp. Correo electrónico: lisethydiaz@belcorp.biz

Resumen

La valoración del potencial sensibilizante de moléculas y formulaciones resulta de gran importancia durante el proceso de evaluación de seguridad de productos en la industria cosmética, ya que se trabaja con formulaciones complejas y no es fácil la determinación del potencial sensibilizante final mediante métodos *in silico*. Esta observación se hace especialmente relevante cuando se trata de productos con filtros solares de origen orgánico, los cuales dada su naturaleza y características químicas poseen un potencial intrínseco como desencadenantes de dermatitis atópica por contacto (DAC). Dichas características resultan retardoras cuando se emplean métodos alternativos de evaluación en animales tales como KeratinoSens™, ya que el riesgo real de estas fórmulas se puede ver incorrectamente estimado debido a un diseño experimental equivocado. Hemos implementado una modificación al protocolo estándar descrito por la OECD en la guía TG 422D, que nos permite hacer una mejor estimación del riesgo de sensibilización dérmica de manera específica para formulaciones que contienen filtros solares. Este ajuste metodológico facilita la inclusión de un estándar interno a las muestras con el objetivo de evaluar los efectos sinérgicos de las moléculas y los cambios dentro del potencial riesgo como sensibilizante cutáneo, enmarcado en la tendencia de que ningún consumidor utiliza solo un producto cosmético dentro de sus rutinas de cuidado personal, este hecho aumenta el riesgo de experimentar eventos adversos por acumulación biológica.

Desarrollo de un método alternativo para la evaluación de la adherencia epicuticular de formulaciones de bioplaguicidas (COL045)

Diana Rocio Vasquez-Carreño ^{1*}, Martha Isabel Gómez-Alvarez ^{2**}, Diana Marcela Aragón-Novoa ³

¹ Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Agrosavia, Departamento de Bioproductos, Sede Central. Km 14 Vía Mosquera Bogotá, Cundinamarca, Colombia. *Correos electrónicos: drvasquez@agosavia.co, drvasquezc@unal.edu.co

² Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Agrosavia, Departamento de Vinculación, Sede Central. Km 14 Vía Mosquera Bogotá, Cundinamarca, Colombia. **Correo electrónico: mgomez@agosavia.co

³ Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia.

Resumen

La adherencia expresada como trabajo de adhesión utilizando formulaciones de plaguicidas, se ha venido trabajando ampliamente sobre la superficie de las hojas. Sin embargo, hasta el momento no se ha evaluado sobre la superficie de un insecto utilizando bioplaguicidas como producto de control biológico y tampoco se han desarrollado modelos *in vitro* de evaluación. Para la elaboración de la película se tuvo en cuenta los ácidos grasos presentes en la cutícula de las especies de *Diatraea saccharalis* y *Chloridea virescens*. Se elaboraron con fuentes de hidrocarburos (animal, vegetal y mineral), mediante la técnica casting húmedo; se usó una fuente derivada de celulosa y plastificante un alcohol. Para su evaluación se prepararon 18 emulsiones tipo (con y sin conidios de *Beauveria bassiana*), desde W/O hasta O/W. Se determinó el ángulo de contacto mediante el uso de la técnica de gota sésil, tensión superficial (gota pendiente) y se calculó el trabajo de adhesión. Una vez determinado el trabajo de adhesión tanto sobre las cutículas de ambos insectos y sobre la película seleccionada para cada insecto se realizó una Correlación de Pearson. La tensión superficial se encontró en un rango de 33,91 – 41,58 mN/nm para las O/W, mientras que las W/O entre 22,64 – 39,03 mN/m. Las emulsiones con proporciones de aceite entre 70% (emulsión tipo 13) y más del 80% de aceite (emulsión 15 a 18), humectaron completamente las cutículas de las larvas de las 2 especies. Observando que la presencia de conidios disminuye los ángulos de contacto y aumenta el trabajo de adhesión independientemente del tipo de emulsión. Los valores encontrados sobre las películas desarrolladas se encontraron dentro del rango encontrado sobre las larvas de las 2 especies, Finalmente, se encontró una correlación de 0,69 y 0,66; indicando una nueva alternativa de reemplazo del modelo *in vivo*.



Bogotá, D. C., Colombia, septiembre 19 de 2024

A los Gobiernos de América Latina y el Caribe,

El Congreso Latinoamericano de Métodos Alternativos al Uso de Animales de Experimentación (COLAMA) es un espacio que desde 2012 reúne a la comunidad científica y al público en general interesado en reemplazar, reducir y refinar el uso de animales en diversas áreas de investigación y educación.

Los investigadores, estudiantes, profesionales, representantes de la sociedad civil y otros interesados reunidos en el V COLAMA realizado en Bogotá Colombia entre el 16 y 20 de septiembre de 2024, considerando el creciente interés colectivo por la aplicación de prácticas éticas y humanitarias en los ensayos con animales y también los progresos tecnológicos alcanzados por la ciencia, solicitan a todos los Gobiernos de América Latina y el Caribe que fomenten el desarrollo de métodos libres de animales para ser utilizados en la investigación y la docencia.

Cuando no es posible reemplazar completamente a los animales y necesitan ser utilizados, debe ser con rigor ético, se deben respetar como seres vivos y se debe garantizar su bienestar empleando los principios de refinamiento y reducción.

El estímulo al desarrollo solicitado debe ser entendido en sentido amplio, considerando los aspectos financieros, de formación, difusión, investigación y uso de estos métodos con el fin de garantizar el respeto a la vida de los animales.

Firman,

Participantes en el Quinto Congreso Latinoamericano de Métodos Alternativos al Uso de Animales de Experimentación (V COLAMA).