

# El enriquecimiento ambiental como un principio ético en la investigación con animales

Marta Luciane Fischer<sup>1</sup>, Windy Pacheco Aguero<sup>2</sup>, Gabriela Santos Rodrigues<sup>3</sup>, Daiane Priscila Simão-Silva<sup>4</sup>, Ana Maria Moser<sup>5</sup>

## Resumen

Los animales utilizados en experimentos disponen de un bienestar reducido y están expuestos al dolor y al sufrimiento. Considerando que la técnica de enriquecimiento ambiental aumenta la calidad de vida de los animales en cautiverio, el objetivo de este estudio fue evaluar su aplicación científica en el ámbito de la promoción del bienestar mediante el reconocimiento de la vulnerabilidad de los modelos biológicos. Para ello, se realizaron análisis documentales y ensayos experimentales, señalando que a pesar de que la técnica de EA se ha aplicado principalmente en estudios de neurociencia, respaldando su viabilidad y la mejora en el aprendizaje, la justificación para su utilización se ha limitado al desarrollo exitoso de la investigación, es decir, no hay un reconocimiento de la vulnerabilidad y de la necesidad de bienestar y de calidad de vida del animal. Por el contrario, se propone la aplicación de enriquecimiento ambiental en animales de laboratorio, en un marco de contractualismo científico y de responsabilidad del investigador, como un estándar a ser adoptado para el beneficio mutuo del desarrollo científico y de la calidad de vida de los animales.

**Palabras clave:** Bioética. Bioética-Medioambiente. Experimentación animal. Mala conducta científica. Psicología experimental.

## Resumo

### Enriquecimento ambiental como princípio ético nas pesquisas com animais

Animais utilizados em experimentos dispõem de reduzidos meios de bem-estar, estando vulneráveis a dor e sofrimento. Considerando que a técnica de enriquecimento ambiental aumenta a qualidade de vida de animais cativos, objetivou-se avaliar sua aplicação científica no âmbito da promoção de bem-estar por meio do reconhecimento da vulnerabilidade de modelos biológicos. Para tanto, conduziram-se análises documentais e ensaios experimentais, atestando que apesar de a técnica de enriquecimento ambiental ter sido aplicada principalmente em estudos de neurociência, endossando sua viabilidade, e da melhora no aprendizado, a justificativa para sua utilização tem se limitado ao bom desenvolvimento da pesquisa, e não em reconhecimento da vulnerabilidade e necessidade de bem-estar e qualidade de vida do animal. Em contraponto, foi proposta a aplicação do enriquecimento ambiental em animais de laboratório, num âmbito de contratualismo científico e responsabilidade do pesquisador, como norma a ser adotada para benefício mútuo do desenvolvimento científico e qualidade de vida animal.

**Palavras-chave:** Bioética. Bioética-Meio ambiente. Experimentação animal. Má conduta científica. Psicologia experimental.

## Abstract

### Environmental enrichment as an ethical principle in animal research

The animals used in experiments have reduced levels of welfare and are thus vulnerable to pain and suffering. Considering that environmental enrichment increases the quality of life of captive animals, we aimed to assess its scientific application regarding the promotion of animal welfare by recognizing the vulnerability of biological models. Thus, documentary analysis and experimental tests were conducted, stating that despite the EE technique having been applied mainly in neuroscience studies, endorsing their feasibility and the improvement in learning, the rationale for its use has been limited to the successful development of research, that is, not in recognition of animals' vulnerability and their need for welfare and quality of life. In contrast, we proposed the application of environmental enrichment for laboratory animals, within a framework of scientific contractualism and the researcher's responsibility, as a standard to be adopted for the mutual benefit of scientific development and the quality of animal life.

**Keywords:** Bioethics. Bioethics-Environmental. Animal Experimentation. Scientific misconduct. Psychology Experimental

## Aprovação Ceua-PUCPR 685

1. **Doutora** marta.fischer@pucpr.br – Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) 2. **Graduada** wy\_aguero@hotmail.com – PUCPR 3. **Graduada** rodriguesga@hotmail.com – PUCPR 4. **Doutora** dpccientist@gmail.com – PUCPR 5. **Doutora** ana.moser@pucpr.br – PUCPR, Curitiba/PR, Brasil.

## Correspondência

Marta Luciane Fischer – Rua Imaculada Conceição, 155 CEP 80215-901. Curitiba/PR, Brasil.

Declararam não haver conflito de interesse.

El conocimiento con respecto a los animales no humanos ha aumentado significativamente a lo largo de la historia, acentuándose en las últimas décadas como resultado del desarrollo de la tecnología asociada al área de las neurociencias. Ese proceso calificó la comprensión de las demandas biopsicosociales de los animales, del valor moral de sus vidas y de la necesidad ética y legal de atenderlas, principalmente en lo que se refiere a animales cautivos para interferencias que no posean justificaciones validadas y para las cuales todavía no hayan alternativas, tales como en la investigación y en la educación<sup>1</sup>.

La definición de bienestar animal (BA) involucra un estado momentáneo de armonía entre el organismo y el ambiente que lo rodea, en el cual el animal busca atender sus necesidades fisiológicas mediante la adaptación, propiciada por el buen estado de salud y oportunidades ambientales<sup>2,3</sup>. Con el objetivo de desarrollar tecnologías que promuevan tanto el diagnóstico de las condiciones del BA como de alternativas para mitigar el efecto del cautiverio, se desarrolló la ciencia del BA, la cual apoya la utilización adecuada de animales, al reconocer las orientaciones inherentes al principio de las 3R: reducción, reemplazo y refinamiento (en el original, *reduction, replacement y refinement*)<sup>4</sup>.

Aunque esa conducta sea ampliamente incentivada en los sistemas de producción, se endosa principalmente en el medio científico por la justificación de que, cuanto mayor sea el BA, más fidedignos serán los resultados de la investigación que involucra animales no humanos. Algunos estudios recientes revelan que un recinto enriquecido con juguetes, túneles y actividad física<sup>5</sup> estimula significativamente la neurogénesis<sup>6</sup> de los roedores. Eso mejora la capacidad de desempeñar tareas cognitivas<sup>5</sup>, como resultado del aumento de la actividad exploratoria y de las nuevas experiencias sensoriales, ocasionando, como consecuencia, el aumento del BA. El área de investigación en laboratorio con roedores, dirigidos principalmente para experimentos que tienen como objetivo el desarrollo biotecnológico, también se ha mostrado conservador en la aplicación de técnicas de enriquecimiento ambiental (EA).

Las estandarizaciones de bioseguridad y zootécnicas priman para que el material introducido en el sistema de creación sea viable tanto para la manipulación como para la limpieza y que no coloque a los animales en riesgo<sup>7</sup>. La mayoría de las enfermedades que afectan a los animales en cautiverio provienen, o aumentan, por el ocio<sup>8</sup> y el EA busca actuar en el aumento de la calidad de vida<sup>9</sup>. De esta forma, la aplicación del EA en ratones actúa en la

mejora de los resultados de investigaciones científicas tanto del área de la salud como en experimentos de aprendizaje<sup>10</sup>, una vez que esa hipótesis se fundamenta en el hecho de que los animales exhibirán aspectos fisiológicos y comportamentales más cercanos a lo que sería natural<sup>11</sup>.

Los ejercicios de laboratorio con ratones constituyen una reproducción de efectos de variables ambientales, las cuales influyen en las relaciones funcionales establecidas por el comportamiento animal<sup>12,13</sup>. Una manera de imponer variables ambientales naturales sería utilizar la psicología experimental para trabajar con resultados de la manipulación de variables importantes, en condiciones controladas<sup>12</sup>. De esa forma, es deber del investigador el cuidado de la alimentación y la oferta de un ambiente higiénicamente adecuado, además de evitar la incomodidad de los animales<sup>12</sup>. Se resalta que toda investigación con animales debe adoptar principios éticos, considerando que deben adquirirse legalmente y que su retención necesita estar de acuerdo con las leyes y regulaciones locales<sup>14</sup>.

Para Weinberg<sup>15</sup>, un científico puede ser brillante, imaginativo e inteligente, pero no será mucho más que un mero científico a menos que sea responsable. Por lo tanto, la responsabilidad es el principio que le garantiza autonomía y libertad al investigador. Esa responsabilidad es social, pues debe asegurar la calidad de la investigación y también es ética con los animales, dado que está manipulando seres vulnerables en el proceso de investigación<sup>16</sup>.

Se debe considerar que no solo la vulnerabilidad es intrínseca a la vida, sino que también que los individuos pueden ser afectados directamente por circunstancias desfavorables. En ese sentido, ser o estar en situación de vulnerabilidad se refiere a una serie de sentidos que se entienden de una situación latente a una situación manifiesta, es decir, de la posibilidad de que el ser vulnerable esté vulnerable<sup>17</sup>. No proporcionarle bienestar al animal no humano es dejarlo en una situación manifiesta de vulnerabilidad, comprometiendo así su calidad de vida y, como consecuencia, el resultado de las investigaciones.

Este estudio se justifica en datos bibliográficos<sup>17,18</sup> que evidencian que el EA es efectivo en la promoción del BA. Sin embargo, se cuestionan los motivos por los cuales su utilización se promueve poco. La hipótesis probada teoriza que el investigador, aunque tenga conocimiento de la legislación vigente<sup>19</sup> y de la mejora en la calidad de vida de los animales proporcionada por el BA (y, como consecuencia, del aumento de la confiabilidad de los

datos) no considera la condición de vulnerabilidad del animal al tomar sus decisiones. Por lo tanto, se busca evaluar la aplicación del EA mediante datos documentales y experimentales, considerando la atribución de la responsabilidad del investigador en cuanto a la promoción del BA frente a las evidencias de la efectividad del EA, así como a la conducción de los resultados de sus investigaciones.

## Material y método

Este artículo está compuesto por dos abordajes metodológicos: uno consiste en el análisis documental sistemático sobre el uso del EA en la investigación científica y el otro es la evaluación experimental del efecto del enriquecimiento ambiental y social en el aprendizaje de los animales evaluados, con el fin de apoyar la discusión sobre la vulnerabilidad del animal y la responsabilidad ética del investigador frente a las evidencias de la efectividad del EA.

### Análisis documental

El análisis documental se dio en artículos científicos recuperados en el portal Capes Periódicos, herramienta que congrega indexadores como Pubmed, Scopus, ASFA, SciELO, OneFile, Medline, Springelink, BioOne y JSTOR. Se aplicó el término de búsqueda “*environmental enrichment*”, condicionado a la presencia del término “*rats*”. La primera etapa se realizó en el periodo entre septiembre y octubre de 2014, analizando el total de registros por año y, enseguida, categorizándolos en temas específicos. Por lo tanto, se rescataron los 100 primeros artículos difundidos entre los años 2013 y 2014, con el objetivo de verificar si la utilización del término “EA” en investigaciones tiene como objetivo la obtención del bienestar y ha reconocido la vulnerabilidad de los ratones de laboratorio. Los artículos de revisión caen bajo los factores de exclusión, así también como a los que no se podía acceder, restando 80 artículos.

### Evaluación experimental

#### • **Animales y local de la investigación**

Se realizó la investigación en el Laboratorio de Análisis de Comportamiento de la Escuela de Salud y Biociencias de la Pontificia Universidad Católica de Paraná (PUCPR), campus de Curitiba. Se analizó el patrón de comportamiento de 40 ratones machos de la especie *Rattus norvegicus*, de aproximadamente 30 días de edad. Los animales fueron

proporcionados por el animalario de la PUCPR y colocados en cajas estándares, dispuestas en los estantes. La mantención fue de soporte diario de agua y alimento y el cambio de cepillo dos veces a la semana.

El roedor *R. norvegicus* se usó como modelo experimental debido a su mayor homogeneidad genética y por utilizarse comúnmente en estudios experimentales y análisis experimental del comportamiento. Además, también contribuyó a la elección el hecho de que son animales gregarios con alta actividad exploratoria y locomotora<sup>11</sup>.

#### • **Experimentos**

El diseño experimental tuvo como objetivo evaluar el efecto del EA y del enriquecimiento social (ES) por medio de la comparación del desempeño del aprendizaje entre individuos mantenidos en recintos con y sin EA y ES. De esa forma, los animales se separaron en cuatro grupos, con 10 animales en cada uno. Grupo 1: Ratones aislados con EA; Grupo 2: ratones aislados sin EA; Grupo 3: ratones en parejas con EA y Grupo 4: ratones en parejas sin EA.

#### • **Enriquecimiento ambiental**

El enriquecimiento ambiental, tanto para los animales aislados como para los que estaban en parejas, consistió en el aumento del túnel de PVC con ángulo de 180° y 7,5 cm de diámetro. El túnel se dispuso en posición lateral y sobre el cepillo, en una caja de 20 cm de alto por 30 cm de largo.

#### • **Enriquecimiento social**

El ES consistió en la mantención de animales en parejas. Para reconocerlos, se les hizo una marca en la cola con lápiz pasta, remarcada semanalmente. Para que no hubiese influencia de esa variable, se marcó a todos los animales, incluso a los que se mantenían aislados. Mediante el análisis del comportamiento, se determinaron el subordinado y el dominante.

#### • **Evaluación del desempeño del aprendizaje**

Para evaluar el aprendizaje de los animales en diferentes condiciones, se realizaron pruebas por medio del procedimiento clásico del análisis experimental del comportamiento<sup>12</sup>, utilizando la caja de Skinner. La caja de condicionamiento operante constituye uno de los principales elementos característicos de la metodología analítico-comportamental<sup>20</sup>.

En la presente metodología, la evaluación del aprendizaje ocurrió por el acondicionamiento

mediante refuerzo positivo, por el bebedero. Se debe mencionar que, para que el agua funcione como refuerzo positivo en los experimentos de aprendizaje, es necesario que el animal no pueda beber agua por 24 horas antes del ejercicio previsto<sup>12</sup>. El primer paso fue la determinación del nivel operante del animal (NO), antes de la modelación del comportamiento (M). Ese procedimiento permite evaluar el efecto del refuerzo positivo (agua) al compararlo con la frecuencia de la respuesta antes y después de la introducción de la recompensa<sup>12</sup>. El ejercicio tuvo una duración promedio de 30 minutos y los comportamientos se registraron en intervalos de un minuto.

Después de la determinación del nivel operante, el animal pasó por el ejercicio de entrenamiento al bebedero. En ese proceso, ocurre la adaptación de respuestas emocionales posibles del sujeto al oír el ruido del bebedero. El experimento tuvo una duración promedio de 15 minutos.

La próxima prueba realizada fue de respuesta al presionar la barra después del refuerzo continuo, el cual consistió en el entrenamiento del modelado de respuesta. El modelado es la liberación de estímulo, conteniendo agua, después de la respuesta previamente definida. El ejercicio duró 10 minutos<sup>12</sup>. Otra característica evaluada fue el nivel de saciedad (S), al verificar cuánto tiempo y cuántas gotas de agua se necesitaron para que el animal se saciara. El experimento tuvo una duración promedio de 60 minutos.

Después de que el animal estuvo condicionado al estímulo de presionar la barra, se realizó el ejercicio de extinción de la respuesta al presionarla (E). Esa prueba también tiene como objetivo observar el efecto sobre la frecuencia del comportamiento de presionar la barra sin la presencia del refuerzo. El proceso finalizó después de que ocurrieron el mínimo de cincuenta respuestas y el animal permaneció diez minutos sin presionar la barra<sup>12</sup>.

Con el objetivo de estimular nuevamente al ratón para que presionara la barra y, de esa forma, obtuviera el refuerzo, se realizó el reacondicionamiento de la respuesta de presión de la barra. Esta prueba tuvo una duración promedio de una hora y el animal contó con un intervalo de cinco minutos para presionar la barra. En caso de que eso no ocurriera, se realizó nuevamente el proceso de modelado de la respuesta, continuando así hasta el momento en que el sujeto recibiera diez estímulos en respuesta de presionar la barra.

Para esta investigación incluso se consideró la extinción del refuerzo intermitente (EI), un

experimento para obtener un comparativo de la tasa de respuesta al presionar la barra con el proceso de extinción del refuerzo continuo. El experimento comenzó con sesiones de diez estímulos. Después de la fase inicial, se cambió la llave de control para la posición manual. De esa manera, el sujeto presionó la barra y no consiguió más la recompensa<sup>12</sup>. La prueba tuvo una duración promedio de 1h 30 min.

#### • **Análisis estadístico y legal**

Los resultados de las pruebas se compararon entre los grupos de acuerdo con el enriquecimiento social y ambiental. La prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para verificar la normalidad de la distribución de las variables. Las comparaciones entre los promedios se realizaron mediante pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis y Mann-Whitney, debido a la ausencia de normalidad de la muestra. Para la comparación entre los valores de frecuencia de patrones motores exhibidos por los animales se utilizó la prueba del chi cuadrado. En todas las pruebas se consideró una significancia del 95%.

Todos los procedimientos, así también como el animalario, estuvieron conforme a la legislación brasileña. La selección del modelo animal se dio como resultado de su prevalencia en protocolos experimentales de la institución, así como por ser tradicionalmente utilizado por la psicología experimental<sup>1</sup>. El diseño experimental buscó el uso del mínimo de animales para la realización de las pruebas estadísticas.

El enriquecimiento ambiental como refinamiento no fue provisto para todos los animales, pues su ausencia era una de las variables estudiadas. La privación del agua por 24 horas también constituyó una variable procedimental para el modelado del comportamiento. Sin embargo, para amenizar el procedimiento en el BA, se buscó distribuir las pruebas de modo que hubiese como mínimo una semana entre ellas. Se procedió a la ambientación antes de las pruebas, con el fin de que los animales se acostumbraran a la presencia del investigador, así como para monitorear sus reacciones durante la investigación, por medio de la mínima manipulación y presencia en el laboratorio.

## Resultados

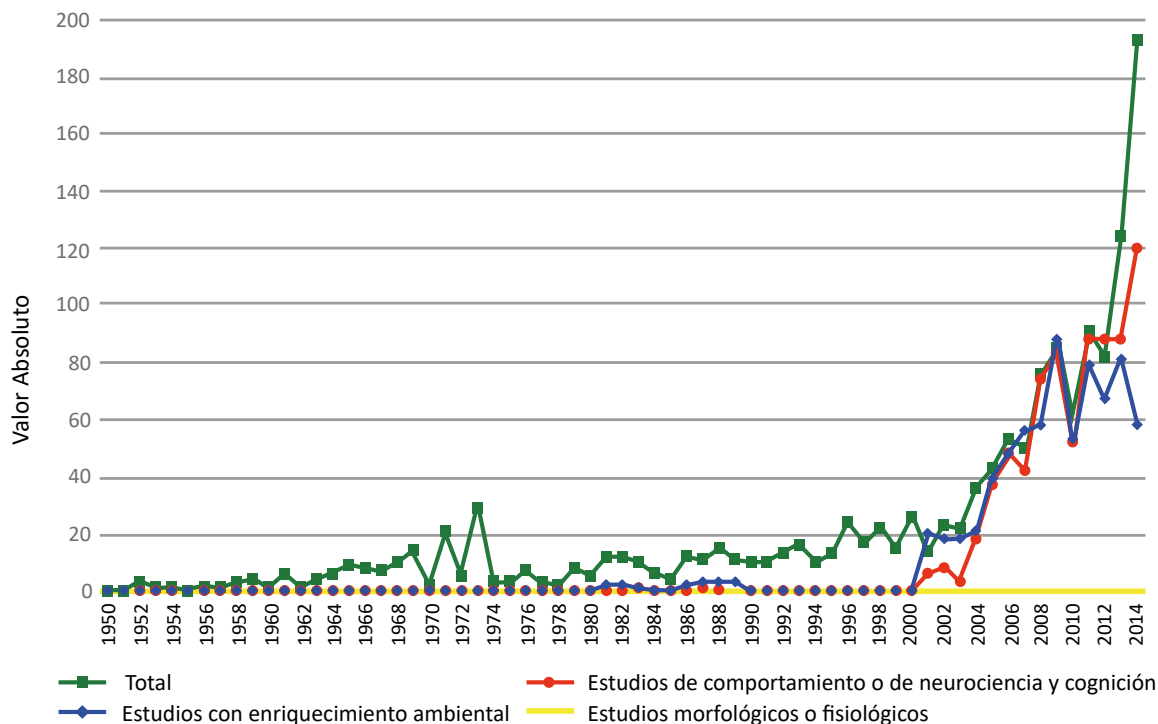
### *Análisis documental*

Los textos científicos revisados indicaron un crecimiento que localiza el primer texto a la década de 1950 y el máximo de producción, en 2014. Los

estudios que utilizan específicamente el enriquecimiento ambiental y la asociación de la técnica con las neurociencias comienzan a surgir en el escenario

científico a partir del año 2000, acompañando en los años siguientes el aumento de la producción científica observada para el total (Figura 1).

**Figura 1.** Distribución temporal de los textos científicos recuperados por el Portal Capes Periódicos.



En los 80 artículos recuperados, la mayoría de las pruebas aplicadas fueron procedimientos cognitivos o neuroanatomopatológicos. La preocupación mostrada en los estudios era atender las necesidades de la investigación en pro del beneficio objetivado por el estudio, buscando resultados homogéneos y no el bienestar animal en sí. El reconocimiento del animal como sujeto vulnerable en el ambiente del laboratorio no se mencionó ni discutió en ningún artículo.

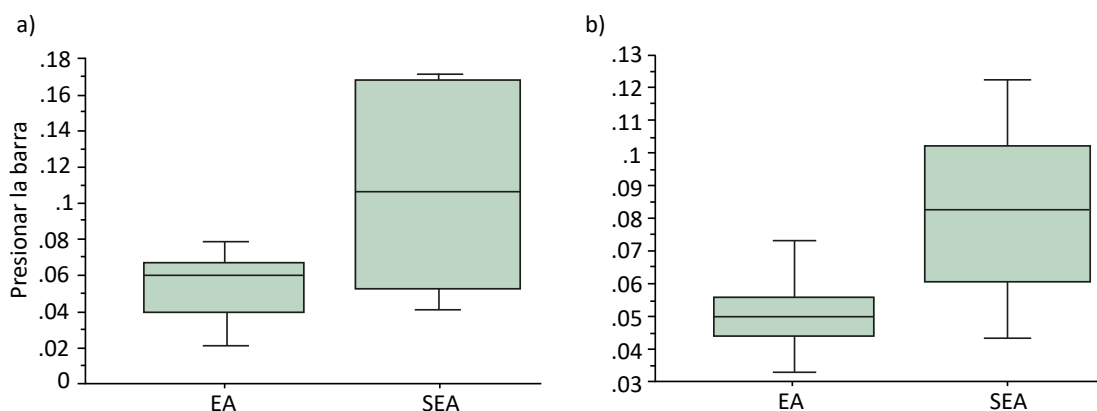
Las investigaciones se referían a estudios de neurología, siendo un 50% neurofisiología y los demás, en neuroanatomía, neurofarmacología y neuroendocrinología. La mayoría de los estudios (75%) tuvo como objetivo verificar el efecto del EA. Los estudios demostraron en su mayoría (96%) que el EA tuvo un efecto positivo en los resultados de las investigaciones y solamente un 3,1% de ellos obtuvieron conclusiones neutras. El 91% de los estudios eran neurológicos, seguidos de estudios de cognición (6%), fármacos (2%) y fenotipo (1%). La mayoría de las pruebas fue de cognición (37%). La combinación

del EA físico y social (29%) fue la más utilizada, seguida del físico, cognitivo y social (18,5%).

### Enriquecimiento ambiental

El grupo 1, con los animales aislados y expuestos al ambiente enriquecido, presentó mejor desempeño en el patrón de aprendizaje ( $t=-3,027$ ;  $p=0,007$ ) cuando se evaluó la evolución del nivel operante (NO) para el de respuesta al presionar la barra después del refuerzo continuo. El grupo con ausencia del EA presentó una diferencia promedio en el número de respuestas (presionar la barra) más heterogénea, con el doble de imprecisión en la respuesta, conforme se puede observar en la figura 2. El mismo patrón de respuesta, con amplia variación y mayor promedio, se observó en el nivel de saciedad en el grupo 2 ( $p=0,005$ ) (Figura 3). No hubo diferencia significativa en los patrones de respuesta entre los grupos 1 y 2 para las otras pruebas cognitivas. Cuando se compararon con los desempeños en las pruebas entre individuos en parejas (grupos 3 y 4), con y sin enriquecimiento, la diferencia no fue significativa.

**Figura 2. a.** Diferencia promedio entre patrón de respuestas (presionar la barra) del nivel operante para el de refuerzo continuo entre ratones con y sin EA. **b.** Nivel de respuesta de presionar la barra referente a la sociedad de los animales aislados en un ambiente con y sin EA

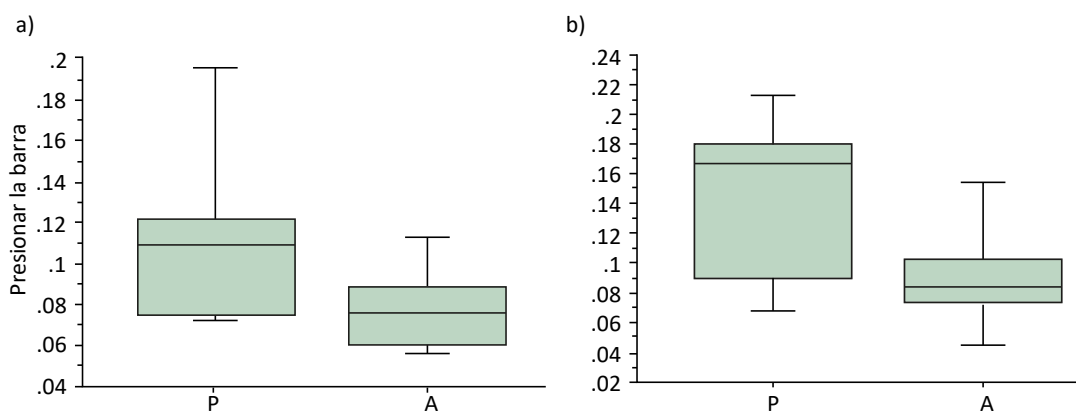


### Enriquecimiento social

No hubo diferencia en el desempeño del proceso de aprendizaje entre individuos dominantes y subordinados en ninguna de las pruebas aplicadas, incluso considerando el estímulo de los ambientes con y sin EA. Siendo así, fue posible comparar parejas, como un todo, con individuos aislados. Se verificó la diferencia del desempeño

de aprendizaje entre las parejas y los aislados en la prueba de extinción del refuerzo intermitente ( $p=0,043$ ) sin influencia del EA. Los individuos aislados obtuvieron mejor desempeño y mayor homogeneidad en la respuesta de presionar la barra en la prueba (Figura 3). No hubo diferencia significativa entre las parejas y los aislados para las otras pruebas realizadas.

**Figura 3.** PPatrón de respuestas (presionar la barra) en la prueba de extinción del refuerzo intermitente entre individuos con y sin enriquecimiento social (duplas – D) y sin enriquecimiento social (isolados – I) en ambientes: **a.** EA y **b.** SEA



### Discusión

El análisis documental y los experimentos realizados evidencian que el uso del EA en investigaciones que involucran la evaluación comportamental y neurológica ya está consolidado y, de hecho, demuestra que su uso logra mejores resultados. Sin embargo, la prioridad de pruebas neuroanatomopatológicas para medir los efectos del EA resalta que

las evaluaciones tenían como objetivo la calidad de la investigación y no la calidad de la vida del animal.

Los datos experimentales de esta investigación indican que el EA favoreció el aprendizaje de ratones, evaluados en las pruebas de modelado. Dichas pruebas evaluaron la respuesta a presionar la barra como determinantes de aprendizaje y revelaron una mejora significativa en el desempeño de los animales mantenidos en un ambiente enriquecido. Esos

resultados corroboran otros estudios que evidenciaron la influencia del EA en la cognición de ratones<sup>17,18</sup>, lauchas<sup>21,22</sup>, conejos<sup>23</sup> y cerdos<sup>24</sup>. Schaeffer<sup>6</sup> resalta que los ambientes enriquecidos proporcionan un aumento de la proliferación de células madre neurales, sobrevivencia de nuevas neuronas<sup>25</sup> y aumento de peso del cerebro<sup>23,26,27</sup>, lo cual promueve, consecuentemente, un mejor desempeño de tareas cognitivas, dado que el aumento de las variables en un ambiente es un factor estimulante.

Muchos investigadores han establecido como un asunto clave en la adopción o no del EA la posibilidad de comprometer los resultados experimentales, principalmente por el aumento de su variabilidad<sup>27,28</sup>. Sin embargo, este estudio constató que el EA contribuyó en la capacidad cognitiva de respuesta a las pruebas iniciales, así como al nivel de saciedad de los ratones de forma más homogénea que en el caso de los individuos sin EA. En lugar de que la complejidad del ambiente enriquecido provoque el aumento de la variación de respuesta entre los individuos por el número de estímulos<sup>29</sup>, parece suceder que la inserción de solo un tubo de PVC propicia una mejora del ambiente, lo cual hace que los individuos sean más capaces de lidiar con los nuevos desafíos propuestos en las pruebas, generando, de esa forma, respuestas uniformes conforme se observó también en otros estudios<sup>30-32</sup>. Los animales no humanos en condiciones de EA han presentado una mayor estabilidad fisiológica y psicológica, por lo que se pueden generar mejores resultados científicos<sup>33</sup>.

En esta investigación, el EA consistió en el ofrecimiento de un objeto para que los animales se pudiesen proteger de la luz y de agresores, lo cual se reconoce como un factor de aumento del BA<sup>34</sup>. En el caso de los roedores, animales de convivencia social gregaria<sup>35</sup>, es necesario considerar que el aislamiento social puede estimular disturbios del comportamiento<sup>36</sup>. En relación con el ES, los resultados de este estudio apuntaron diferencias solo en una fase más compleja de las pruebas de aprendizaje y los individuos aislados presentaron ventajas en la reelaboración de respuestas al estímulo positivo. Dicho resultado puede ser el reflejo de una leve inestabilidad social generada entre las parejas en las jaulas, pues, en la literatura, se indican tres individuos por ambiente debido a la disminución de comportamientos agresivos y mejor estabilidad social<sup>37</sup>. La falta de observación de diferencias en el desempeño del aprendizaje en las otras pruebas entre las parejas y los aislados refuerza las recomendaciones de Van Loo y Baumans<sup>38</sup> de que, cuando

hay necesidad de mantener animales en aislamiento social, sería adecuado utilizar nidos, con el objetivo de que descansen y tengan la sensación de seguridad, así también como condiciones adecuadas de control térmico.

Se hace notar que la preocupación expresada por la aplicación del EA, relativa a la variabilidad de los resultados cuando se consideran las condiciones ambientales, en realidad se refiere a la importancia de una amplia discusión en el ámbito científico. A partir de la propuesta del EA, se han dirigido varios estudios con el objetivo de identificar las variables que afectan experimentos de laboratorios. Los resultados apuntan a una serie de parámetros importantes, como condiciones básicas de vivienda<sup>28</sup>, sexo, especie, edad del animal, condiciones de iluminación de la jaula<sup>39</sup> y temperatura<sup>40</sup>.

Es evidente que los factores que influyen los resultados de experimentos con animales no humanos están relacionados directamente con la estructura en la cual se encuentra el individuo. De esa constatación se destacan dos aspectos importantes, siendo el primero de ellos la responsabilidad social del investigador con la calidad de sus experimentos, garantizando resultados confiables. El segundo aspecto es el deber de respeto a la vida de los animales expuestos a una situación experimental, en la cual su vulnerabilidad existencial se incrementa debido al dolor, incomodidad y sufrimiento.

### **Responsabilidad social en investigaciones con animales no humanos**

Según Jonas<sup>41</sup>, el ser humano, por disponer de capacidades de entendimiento, experimenta la responsabilidad como un acto de libertad y dicha responsabilidad es esencialmente ética. Todo investigador tiene responsabilidad social con la comunidad en general<sup>42</sup> y la responsabilidad social principal es evitar la distorsión de datos en la investigación, asegurando así la integridad de estos. La revisión de la literatura<sup>43</sup> afirmó que condiciones básicas, como la luminosidad del ambiente en que se encuentran los animales, son capaces de interferir en la respuesta de los individuos. De esta forma, la falta de estandarización de condiciones ambientales adecuadas para los animales, además de la falta de ética, configura una mala conducta científica en lo que se refiere a los datos de investigación<sup>43</sup>.

A partir del principio de responsabilidad ética y social vinculada a la investigación, se propone el EA como una de las orientaciones y normas de conducta ética en la investigación con animales no

humanos. Giorgini *et al.*<sup>44</sup> señalaron que el papel del código de ética en la conducta de los investigadores en las prácticas del laboratorio ha sido moderado. Según Habermas<sup>45</sup>, en una sociedad plural no hay un *ethos* tradicional o un consenso sustancial de normas, valores o principios que fundamenten las respuestas a las preguntas prácticas. Sin embargo, en la ausencia de ese consenso, existe una forma de “consentimiento racional” por parte de individuos autónomos, libres e iguales que identifican por medio de prácticas deliberativas de comunicación una justificación racional para adoptar una determinada norma. De esa forma, se define el contractualismo moderno, el cual se justifica racionalmente a partir de procedimientos dialógicos fundados en la racionalidad comunicativa<sup>46</sup>.

En ese sentido, el mejor argumento racional entre la comunidad científica es el establecimiento de estrategias de promoción del BA, lo cual hace posible establecer el EA en el contrato científico como norma a ser adoptada para el beneficio mutuo del desarrollo científico y calidad de vida animal.

Otro punto importante es el de la vulnerabilidad del animal en condición experimental. Para Hossne<sup>46</sup>, todos los seres vivos están sujetos a vulnerabilidad, lo cual resulta de la incapacidad de protección de intereses propios. El vulnerable que sufre de necesidades no atendidas se vuelve más propenso a ser fácilmente alcanzado y victimado<sup>47</sup>. Los animales utilizados en experimentos de laboratorios tienen una reducida gama de posibilidades disponibles para alcanzar grados más elevados del BA, incluso frente a la necesidad de no sufrir y velar por la sobrevivencia, ya que son incapaces de reivindicar sus propios intereses estando, de esa forma, vulnerables. Después, se vuelve al principio de responsabilidad social y ética del investigador, quien al manipular una vida vulnerada incurre al riesgo de comprometer los resultados de la investigación. Además, la responsabilidad ética de la vida de los animales de laboratorio provee condiciones esenciales de BA y calidad de vida.

Frente a tales circunstancias, es necesario prestar atención al hecho de que las investigaciones ya probaron los beneficios del BA, lo que lleva a cuestionar si la omisión frente a esa variable en el análisis y mediación de los resultados podría considerarse un tipo de fraude<sup>48</sup>. Sin embargo, cabe considerar también la vulnerabilidad del propio investigador frente a la presión académica para hacer una publicación, al incentivo y premiación de resultados positivos en periódicos de alto impacto<sup>49</sup> y a la necesidad del cumplimiento de plazos, además de

la ambición por investigaciones que no son debidamente justificadas por los resultados. Esos factores pueden llevar al profesional a considerar solo la utilidad inmediata del animal, en lugar de la efectividad de la investigación y ética de sus conductas.

Sin embargo, incluso considerando la presión que puede haber sobre el investigador, cabe evaluar que la confidencialidad en las investigaciones puede medirse por la interpretación de los resultados. Por lo tanto, es necesario mejorar la calidad de los experimentos con animales, considerando incluso que las prácticas irresponsables incluyen malos tratos a los animales de laboratorio. Las investigaciones deben tener protocolos experimentales que atiendan las justificaciones, con diseño estadístico adecuado y metodología detallada, conforme orienta la norma del Conceja<sup>50</sup>. Esa resolución también enfatiza la preocupación en minimizar el dolor y la angustia de los animales para que se eviten alteraciones fisiológicas y comportamentales, de modo que no lleve a una interpretación incorrecta de los datos<sup>50</sup>.

### Consideraciones finales

Identificar el umbral entre el ser o el estar vulnerable es una interrogante bioética que no pretendía ser discutida o abordada directamente en una búsqueda de artículos científicos que involucraban EA. Eso sí, se esperaba analizar el reconocimiento y la evaluación del EA como un aliado de la calidad de vida y del BA. El hecho de que el EA esté siendo probado para mejorar el resultado de la investigación constituye un punto positivo para mejorar las condiciones de los animales en cautiverio. Sin embargo, se destaca que, para que el EA pueda proteger efectivamente a los vulnerados, del punto de vista ético, solo puede considerarse adecuado en el contexto de la evaluación sistemática de la vulnerabilidad.

En ese sentido, la preocupación de patrones neuroanatómicos o de respuestas cognitivas en las pruebas restringe el enfoque de la investigación y hace que el EA sea un procedimiento ético más que debe asociarse a protocolos estandarizados. Promover el BA, conforme corroboran los resultados experimentales de este estudio, además de favorecer condiciones ambientales adecuadas para los animales, llevará al investigador a obtener resultados confiables y reproducibles. Sin embargo, para eso es necesario comprender las demandas biológicas y comportamentales del animal y del EA de forma amplia e integrada. Esa es la responsabilidad ética y social vinculada a la investigación y a todos los involucrados, incluyendo creación, mantención, manipulación y transporte de los animales.



En síntesis, se propone el EA como una de las orientaciones y normas de conducta ética en la investigación con animales en un ámbito de contractualismo científico. En ese contexto, el investigador adopta la norma de responsabilidad

social, tanto para beneficio del desarrollo científico como para la calidad de vida del animal humano, el cual en los contextos experimentales se encuentra en situación específica de vulnerabilidad.

## Referencias

1. Fischer ML, Oliveira GMD. Ética no uso de animais: a experiência do comitê de ética no uso de animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. *Estud Biol, Ambiente Divers.* 2012;34(83):247-60.
2. Hughes BO. Behaviour as index of welfare. *Proceedings of the Vth European poultry Conference;* 1976. Malta: Poultry Science Association; 1976. p. 1005-18.
3. Broom DM, Fraser AF. *Comportamento e bem-estar de animais domésticos.* 4ª ed. Barueri: Manole; 2010.
4. Russel WMS, Burch RL. *The principles of humane experimental techniques.* Londres: Universities Federation for Animal Welfare; 1992.
5. Silva IS. Neurogênese no sistema nervoso adulto de mamíferos. *Revista da Biologia.* 2009 dez [acesso 15 out 2015];3:1-14. Disponível: <http://bit.ly/2bWhLi3>
6. Schaeffer EL. Enriquecimento ambiental como estratégia para promover a neurogênese na doença de Alzheimer: possível participação da fosfolipase A<sub>2</sub>. [Internet]. *Rev Psiq Clín.* 2010 jul [acesso 3 out 2015];37(2):73-80. Disponível: <http://bit.ly/2bgTwKb>
7. Neves SMP, Mancini J Filho, Menezes EW, editores. *Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP.* São Paulo: FCF-IQ/USP; 2013.
8. Grandin T, Johnson C. *O bem-estar dos animais: proposta de uma vida melhor para todos os bichos.* Rio de Janeiro: Rocco; 2010.
9. Alcock J. *Comportamento animal.* 9ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2011.
10. Ratajczak P, Nowakowska E, Kus K, Danielewicz R, Herman S, Woźniak A. Neuroleptics and enrichment environment treatment in memory disorders and other central nervous system function observed in prenatally stressed rats. *Hum Exp Toxicol.* 2015 maio;34(5):526-37.
11. Ghidini VK. *Influência do enriquecimento e do estresse imprevisível em camundongos pré-selecionados pelo perfil exploratório [tese].* Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2010.
12. Gomide PIC, Weber LND. *Análise experimental do comportamento: manual de laboratório.* Curitiba: EDUFPR; 2003.
13. Frajblat M, Amaral VLL, Rivera EAB. *Ciência em animais de laboratório.* *Ciênc Cult.* 2008;60(2):44-6.
14. Schnaider TB, Souza C. Aspectos éticos da experimentação animal. *Rev Bras Anesthesiol.* 2003;53(2):278-85.
15. Weinberg AM. The obligations of citizenship in the republic of science. *Minerva.* 1978;16(1):1-3.
16. Hossne WS. Dos referenciais da bioética: a vulnerabilidade. *Bioethikos.* 2009;3(1):41-51.
17. Tomchesson JL. *The behavioral effects of environmental enrichment in rats [tese].* Bethesda: Uniformed Services University of the Health Sciences; 2004.
18. Van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci.* 2005;25(38):8680-5.
19. Brasil. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. *Procedimentos para uso científico dos animais.* [Internet]. *Diário Oficial da União.* Brasília, 9 out 2008 [acesso 24 jun 2014]. Disponível: <http://bit.ly/1WV52wP>
20. Lattal KA. Steps and pips in the history of the cumulative recorder. *J Exp Anal Behav.* 2004;82(3):329-55.
21. Dong S, Li C, Wu P, Tsien JZ, Hu Y. Environment enrichment rescues the neurodegenerative phenotypes in presenilins-deficient mice. *Eur J Neurosci.* 2007;26(1):101-12.
22. Frick KM, Benoit JD. Use it or lose it: environmental enrichment as a means to promote successful cognitive aging. *ScientificWorld Journal.* 2010;10:1129-41.
23. Moura ASAMT, Barros TFM, Fernandes S, Siqueira ER. *Composição do grupo social e enriquecimento ambiental modificam o comportamento de coelhos em crescimento.* Botucatu: Unesp; 2012.
24. Douglas C, Bateson M, Walsh C, Bédoué A, Edwards SA. Environmental enrichment induces optimistic cognitive biases in pigs. *Appl Anim Behav Sci.* 2012;139:65-73.
25. Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci.* 2000;1(3):191-8.
26. Pereira LB, Almeida ARV, Soares AF. *Enriquecimento ambiental para animais que vivem em cativeiro.* *Anais da IX Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão.* Recife: UFRPE; 2009 [acesso 7 set 2015]. Disponível: <http://bit.ly/2bOptaG>

27. Benefiel AC, Dong WK, Greenough WT. Mandatory “enriched” housing of laboratory animals: the need for evidence-based evaluation. *ILAR J.* 2005 [acceso 20 set 2015];46(2):95-105. Disponível: <http://bit.ly/2biMndM>
28. Baumans V, Van Loo PLP, Pham TM. Standardization of environmental enrichment for laboratory mice and rats: utilisation, practicality and variation in experimental results. *Scand J Lab Anim Sci.* 2010;37(2):101-14.
29. Eskola S, Lauhikari M, Voipio HM, Laitinen M, Nevalainen T. Environmental enrichment may alter the number of rats needed to achieve statistical significance. *Scand J Lab Anim Sci.* 1999;26(3):134-44.
30. Baumans V. Environmental enrichment: practical applications. In: Van Zutphen LFM, Balls M, editores. *Animal alternatives, welfare and ethics.* Amsterdam: Elsevier; 1997. p. 187-91.
31. Van de Weerd HA, Van Loo PLP, Van Zutphen LFM, Koolhaas JM, Baumans V. Nesting material as environmental enrichment has no adverse effects on behavior and physiology of laboratory mice. *Physiol Behav.* 1997;62(5):1019-28.
32. Wemelsfelder F. Animal boredom: a model of chronic suffering in captive animals and its consequences for environmental enrichment. *Humane Innovations and Alternatives.* 1994;8:587-91.
33. Van de Weerd HA, Aarsen EL, Mulder A, Kruitwagen CLJJ, Hendriksen CFM, Baumans V. Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. *J Appl Anim Welf Sci.* 2002;5(2):87-109.
34. Dawkins MS. From an animal’s point of view: motivation, fitness, and animal welfare. *Behav Brain Sci.* 1990;13:1-61.
35. Lacey EA, Sherman PW. The ecology of sociality in rodents. In: Wolff JO, Sherman PW, editors. *Rodents Societies: an ecological and evolutionary perspective.* Chicago: University of Chicago; 2007. p. 243-54.
36. Arakawa H. Interaction between isolation rearing and social development on exploratory behavior in male rats. *Behav Processes.* 2005;70(3):223-34.
37. Baumans V. Science-based assessment of animal welfare: laboratory animals. *Rev Sci Tech.* 2005;24(2):503-13.
38. Van Loo PLP, Baumans V. The importance of learning young: the use of nesting material in laboratory rats. *Lab Anim.* 2004;38(1):17-24.
39. Galef BG Jr, Sorge RE. Use of PVC conduits by rats of various strains and ages housed singly and in pairs. *J Appl Anim Welf Sci.* 2000;3(4):279-92.
40. Garner JP. Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. [Internet]. *ILAR J.* 2005 [acceso 7 set 2015];46(2):106-17. Disponível: <http://bit.ly/2bPSdB2>
41. Jonas H. *Memórias.* Madrid: Losada; 2005.
42. Frankel GEC, Austin Z. Responsibility and confidence: identifying barriers to advanced pharmacy practice. *Can Pharm J.* 2013;146(3):155-61.
43. Braga LMGM. Animal como um modelo experimental: noções básicas de genética, sanidade, alojamento e manutenção de animais de laboratório. In: Feijó AGS, Braga LMGM, Pitrez PMC, organizadoras. *Animais na pesquisa e no ensino: aspectos éticos e técnicos.* Porto Alegre: EDIPUCRS; 2010. p. 171-86.
44. Giorgini V, Mecca JT, Gibson C, Medeiros K, Mumford MD, Connelly S *et al.* Researcher perceptions of ethical guidelines and codes of conduct. *Account Res.* 2015;22(3):123-38.
45. Habermas J. *Direito e democracia: entre facticidade e validade.* Rio de Janeiro: Tempo Brasileiro; 1997. v. 1 e 2.
46. Werle DL. Razão e democracia: uso público da razão e política deliberativa em Habermas. *Trans/Form/Ação.* 2013;36(1):149-76.
47. Levine C, Faden R, Grady C, Hammerschmidt D, Eckenwiler L, Sugarman J. The limitations of “vulnerability” as a protection for human research participants. *Am J Bioeth.* 2004;4(3):44-9.
48. Heyde CJ. NABR’s misinformation cripples animal welfare and scientific integrity. [Internet]. *AWI Quarterly.* 2002 [acceso 28 out 2013];(51)3:14-15. Disponível: <http://bit.ly/2cMb0j9>
49. Fagot-Largeault A. Petites et grandes fraudes scientifiques. [Internet]. In: Fussman G, organizador. *La mondialisation de la recherche.* Paris: Collège de France; 2011 [acceso 27 out 2015]. Disponível: <http://bit.ly/2bWEkU7>
50. Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. *Normativas do Concea para produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica.* 2ª ed. Brasília: Concea; 2015. Disponível: <http://bit.ly/2bOCmll>

### Participación de los autores

Marta Luciane Fischer planificó y orientó la conducción de la investigación, el análisis de los datos y la redacción. Wyndi Pacheco Agüero planificó la investigación y realizó experimentos de comportamiento. Gabriela Santos Rodrigues recabó datos documentales y participó en la redacción del texto. Daiane Priscila Simão Silva interpretó los resultados y participó en la redacción del texto. Ana Maria Moser planificó la investigación e interpretó resultados.

Recebido: 7.12.2015

Revisado: 20. 6.2016

Aprovado: 23. 6.2016