

Este informe recoge la opinión colectiva de un grupo internacional de especialistas y no representa necesariamente el criterio ni la política de la Organización Mundial de la Salud.

**ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD
SERIE DE INFORMES TECNICOS**

Nº 364

**PRINCIPIOS
APLICABLES A LA INVESTIGACION
EXPERIMENTAL
DE LA ACCION TERATOGENA
DE LOS MEDICAMENTOS**

**Informe
de un Grupo Científico de la OMS**

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

GINEBRA

1967

© Organización Mundial de la Salud 1967

Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están acogidas a la protección prevista por las disposiciones sobre reproducción de originales del Protocolo 2 de la Convención Universal sobre Derecho de Autor. Ello no obstante, los organismos gubernamentales, las sociedades culturales y científicas y las asociaciones profesionales pueden reproducir ilustraciones, datos o extractos de esas publicaciones sin necesidad de pedir autorización a la Organización Mundial de la Salud.

Las entidades interesadas en reproducir o traducir íntegramente alguna publicación de la OMS deberán solicitar la oportuna autorización de la División de Servicios de Edición y de Documentación, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza. La Organización Mundial de la Salud dará a esas solicitudes consideración muy favorable.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que se presentan los datos que contiene no implican, por parte del Director General de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de ninguno de los países o territorios citados o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o del nombre comercial de ciertos productos no implica que la OMS los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las marcas registradas de artículos o productos de esta naturaleza se distinguen en las publicaciones de la OMS por una letra inicial mayúscula.

PRINTED IN SWITZERLAND

INDICE

	Página
1. Introducción	5
2. Consideraciones generales	6
3. Animales de experimentación	8
4. Posología y administración de los medicamentos	10
5. Observación de los animales	11
6. Evaluación	15
7. Perspectivas	17
8. Conclusiones	19

**GRUPO CIENTIFICO DE LA OMS
SOBRE PRINCIPIOS APLICABLES A LA INVESTIGACION EXPERIMENTAL
DE LA ACCION TERATOGENA DE LOS MEDICAMENTOS**

Ginebra, 14-19 de noviembre de 1966

*Miembros : **

Profesor J. B. E. Baker, Departamento de Farmacología, Escuela de Medicina del Hospital Charing Cross, Universidad de Londres, Inglaterra

Profesor A. P. Dyban, Laboratorio de Embriopatología, Instituto de Medicina Experimental, Leningrado, URSS

Profesor G. H. M. Gottschewski, Instituto de Inmunobiología Max Planck, Friburgo, República Federal de Alemania

Profesor H. Nishimura, Departamento de Anatomía, Universidad de Kyoto, Japón

Profesor Birthe Palluden, Departamento de Fisiología y Endocrinología, Real Colegio de Veterinaria y Agricultura, Copenhague, Dinamarca

Dr. H. M. Peck, Director de Toxicología y Patología, Instituto Merck de Investigaciones de Terapéutica, West Point, Pa., Estados Unidos de América (*Relator*)

Profesor H. Tuchmann-Duplessis, Laboratorio de Embriología, Facultad de Medicina, París, Francia (*Vicepresidente*)

Profesor J. G. Wilson, Departamento de Investigaciones de Pediatría y Anatomía, Children's Hospital Research Foundation, Cincinnati, Ohio, Estados Unidos de América (*Presidente*)

Secretaría :

Profesor K. H. Degenhardt, Instituto de Genética Humana y Enfermedades Hereditarias, Universidad de Francfort, República Federal de Alemania (*Consultor*)

Dr. H. Halbach, Dr. med., Dr. Ing., Jefe del Servicio de Farmacología y Toxicología, OMS (*Secretario*)

* No pudo asistir a la reunión el Profesor E. Wolff, del Laboratorio de Embriología Experimental del Collège de France, Nogent-sur-Marne, Francia.

PRINCIPIOS APLICABLES A LA INVESTIGACION EXPERIMENTAL DE LA ACCION TERATOGENA DE LOS MEDICAMENTOS

Informe de un Grupo Científico de la OMS

El Grupo Científico de la OMS sobre Principios Aplicables a la Investigación Experimental de la Acción Teratógena de los Medicamentos se reunió en Ginebra del 14 al 19 de noviembre de 1966. El Subdirector General, Dr. P. M. Kaul, abrió la reunión en nombre del Director General y expuso a grandes rasgos el mandato del Grupo, haciendo constar que la reunión se había convocado en ejecución del programa de la OMS para el fomento de la inocuidad de los medicamentos.

El Grupo eligió Presidente al Dr. J. G. Wilson, Vicepresidente al Dr. H. Tuchmann-Duplessis y Relator al Dr. H. M. Peck.

1. INTRODUCCION

En otro informe, de un Grupo Científico de la OMS, sobre los « Principios Aplicables al Estudio Preclínico de la Inocuidad de los Medicamentos »¹ se tratan las cuestiones de orden general relacionadas con la evaluación de la inocuidad de los medicamentos² en los animales y se exponen los problemas que plantea la extrapolación de los datos obtenidos en esos estudios al caso del hombre.

Los principios enunciados en ese informe para el estudio preclínico de los medicamentos nuevos se refieren a la administración por diversas vías de una dosis única o de dosis repetidas a animales de especies adecuadas. El Grupo Científico encareció a ese respecto la necesidad de efectuar estudios bioquímicos sobre la absorción, la distribución, la transformación y la eliminación de los medicamentos e hizo hincapié en la importancia

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1966, 341.

² El Grupo Científico de la OMS sobre Principios Aplicables al Estudio Preclínico de la Inocuidad de los Medicamentos dio la siguiente definición del término « medicamento »: « cualquier sustancia o producto utilizado, o destinado a ser utilizado, para modificar o explorar un sistema fisiológico o un estado patológico en beneficio del individuo que lo recibe » (*Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1966, 341, 7).

que tienen las diferencias de especie o de estirpe, particularmente las que pueden influir en los citados fenómenos. Los lectores interesados en conocer el detalle de las recomendaciones fundadas en esas consideraciones pueden consultar el informe del Grupo.

No se tratan, sin embargo, en ese informe los complejos problemas relacionados con la teratogenicidad de los medicamentos, asunto cuyo estudio se decidió encomendar a otro Grupo Científico que, después de examinar la naturaleza y el fundamento científico de los métodos disponibles para la investigación de los efectos teratogénicos, ha tratado de evaluar su utilidad para la previsión de los citados efectos en el hombre y ha descrito someramente las técnicas de experimentación admitidas y sus limitaciones. Las dificultades de esa investigación se deben en buena parte a la insuficiencia de los conocimientos actuales sobre los procesos del desarrollo embrionario y fetal y, a juicio del Grupo, podrían superarse con un esfuerzo perseverante y coordinado de los investigadores de distintas especialidades que intervienen en el estudio del problema.

2. CONSIDERACIONES GENERALES

Hace ya algún tiempo que empezó a investigarse la acción teratogena de los medicamentos, pero hasta los últimos años los investigadores se han limitado a estudiar la frecuencia, las manifestaciones y las causas de las anomalías del desarrollo y no se han ocupado de los problemas prácticos que plantea la averiguación de los posibles efectos teratogénicos antes de los ensayos clínicos. Las consecuencias que tuvo el uso de la talidomida atrajeron bruscamente la atención del mundo entero sobre la inaplazable necesidad de estudiar más a fondo la cuestión. Los investigadores, que no podían prever ese aumento súbito del interés por la teratología, no están todavía en situación de recomendar, como se les pide que hagan, métodos seguros y viables para el ensayo preclínico de los medicamentos que se administran a las mujeres en edad de procrear; en efecto, los especialistas dedicados a la investigación fundamental no tienen conocimiento suficiente de los métodos de experimentación toxicológica y, por el contrario, los que están versados en las técnicas ultraprecisas de la toxicología no conocen bastante a fondo los procesos de la reproducción y del desarrollo embrionario para encargarse de los estudios teratológicos indispensables. Esa necesidad de aunar dos sectores de investigación tan distintos y tan especializados plantea un arduo problema a las autoridades que han de organizar el ensayo teratológico de los medicamentos y que no disponen de un asesoramiento bastante autorizado a la hora de adoptar las necesarias decisiones de orden práctico.

Deseosa de contribuir a la solución de un problema tan apremiante, la OMS encargó al Grupo Científico, integrado por especialistas en embri-

logía, farmacología, toxicología y teratología humana y experimental, que informara sobre las medidas que pueden recomendarse para el estudio teratológico de los medicamentos, tomando como base los conocimientos de todas esas disciplinas que resultaran más útiles para el caso. No se encargó, en cambio, al Grupo — que se abstuvo también de asumir por iniciativa propia tamaña responsabilidad — que fijara y avalara con su autoridad las técnicas de ensayo necesarias para excluir de manera categórica el riesgo de efectos teratogénicos en la administración de un medicamento determinado. No es posible dar seguridades semejantes respecto de ningún medicamento, sean cuales sean las condiciones de administración y la persona a quien se administra. Ello no obstante, el Grupo acometió la ardua empresa de formular una serie de recomendaciones, tan fundadas como fuera posible, a pesar de las discrepancias de opinión, de la insuficiencia de los datos disponibles y de las deficiencias de los métodos en uso. La mayor dificultad es la insuficiencia, cuando no la falta absoluta de conocimientos sobre cuestiones tan fundamentales como los procesos de teratogénesis, el metabolismo de los medicamentos en el embrión y en la madre, y las vías metabólicas en el animal y el hombre.

Ciertos medicamentos pueden entorpecer o impedir los procesos de la reproducción, pues no sólo provocan malformaciones o causan la muerte del embrión sino que suprimen la gametogénesis o hacen imposible la fecundación. Las recomendaciones que siguen se refieren solamente a los efectos de los medicamentos en las etapas siguientes a la concepción, es decir, sobre el óvulo fecundado o segmentado, sobre el blastocisto, sobre el embrión, sobre el feto y sobre el recién nacido. Se admite, en general, que el riesgo de teratogénesis es especialmente grande durante el desarrollo embrionario, en el momento en que se inician la diferenciación de los tejidos y la formación de los órganos. Hay, sin embargo, indicios cada vez más numerosos de que las anomalías del desarrollo pueden ser efecto de influencias ejercidas en cualquier momento de la gestación. Es también indudable que otras influencias ejercidas durante el periodo prenatal pueden provocar aberraciones estructurales o metabólicas después del nacimiento. Las recomendaciones que se formulan seguidamente se refieren en su mayoría al periodo embrionario, durante el que se inician sin duda ninguna casi todas las malformaciones, pero no debe olvidarse que las anomalías funcionales o bioquímicas del desarrollo pueden producirse también en otras etapas de la vida.

Importa, pues, aclarar que para los efectos del presente informe el término « malformación » no designa exclusivamente las aberraciones del desarrollo estructural o anatómico, sino que también se aplica a entidades funcionales y bioquímicas. Para esos mismos efectos se considera además incluido en la teratología el estudio de las anomalías estructurales, funcionales o bioquímicas del desarrollo iniciadas antes del nacimiento. Las de orden funcional se determinan por relación a parámetros de comporta-

miento y las bioquímicas por relación a parámetros metabólicos. El término «embriopatía» se da por sinónimo de «aberración de desarrollo».

3. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

3.1 Especies

El ratón, la rata y el conejo son los animales de experimentación de uso más frecuente en teratología. Las razones principales de esa preferencia son que las citadas especies se han utilizado ya para el estudio de ciertos agentes teratógenos y pueden emplearse en casi todos los laboratorios; desde otros puntos de vista, la elección es arbitraria, pues todavía no se conoce ninguna especie de susceptibilidad parecida a la del hombre para la acción teratogénica.

El embrión de pollo, que se utiliza mucho para los estudios de embriología fundamental, no debería emplearse para la investigación de los efectos teratogénicos de los medicamentos porque es demasiado sensible a una extensa variedad de agentes y porque en las aves las relaciones anatómicas y fisiológicas entre la hembra grávida y el producto de la concepción no guardan ninguna semejanza con las que existen en los mamíferos.

Todas las sustancias de acción teratogénica en el hombre tienen también efectos de ese tipo en el ratón, en la rata y en el conejo, pero no hay ninguna certeza de que los resultados negativos obtenidos en el ensayo de medicamentos en esos animales sean indicio fehaciente de inocuidad teratológica en la especie humana. Por las mismas razones, no se puede asegurar que las sustancias de acción teratogénica para los animales citados cuando se administran en dosis elevadas tendrán necesariamente efectos semejantes en las personas sometidas a tratamiento con dosis terapéuticas.

También se utilizan en los estudios teratológicos, si bien con frecuencia mucho menor, cerdos, perros, gatos, monos y otros animales. Teniendo en cuenta la gran fecundidad del cerdo y su considerable susceptibilidad a la acción de los teratógenos, convendría que esa especie se empleara con carácter más general. Por lo que respecta al perro y al gato, especies de uso muy frecuente en los estudios farmacológicos, será necesario conocer muy a fondo la farmacodinamia y el metabolismo de un medicamento antes de investigar su acción teratogénica en esos animales. Por desgracia, la insuficiencia de los conocimientos disponibles sobre los procesos normales del desarrollo embrionario y fetal de ambas especies limita mucho su utilidad para la investigación de los efectos teratogénicos.

Más lógico parece el uso de ciertas especies de simios en atención a su afinidad filogenética con el hombre; es de esperar que los resultados definitivos de las investigaciones emprendidas en algunos centros demuestren que esos primates son más útiles que los roedores para la experimentación

teratológica. Los resultados iniciales permiten ya suponer que desde el punto de vista de la sensibilidad del embrión a los agentes teratógenos, los monos están más cerca del hombre que ningún otro animal; en esas condiciones, hay que procurar por todos los medios la intensificación de los estudios teratológicos sobre simios. Como las investigaciones en primates exigen medios técnicos especiales, abundantes medios económicos y una estrecha colaboración entre especialistas de distintas disciplinas, lo mejor sería confiarlas a centros convenientemente situados y establecer la debida coordinación de sus actividades. Convendría asimismo, a juicio del Grupo Científico, estudiar más a fondo ciertas especies de primates inferiores (el galago, por ejemplo) que podrían ser muy útiles para el perfeccionamiento de las técnicas de investigación teratológica; en algunas de esas especies, la hembra tiene dos gestaciones al año y en cada una de ellas puede parir dos crías.

El Grupo considera inadmisibles e impracticables la organización sistemática de ensayos de medicamentos en las mujeres embarazadas en las que haya de interrumpirse la gestación por motivos terapéuticos.

3.2 Número de animales necesarios para los ensayos

En el caso de los roedores, el número de animales de experimentación puede ser tan elevado como convenga para el análisis estadístico de los resultados. Cuando se utilicen especies más próximas al hombre o de metabolismo muy semejante al de la especie humana y de particular interés para ciertas investigaciones especiales, se empleará el mayor número posible de animales para que los resultados de un mismo tipo de experiencias no varíen mucho.

3.3 Estado de salud y cuidado de los animales

Los animales que se utilicen para el estudio de la acción teratógena de los medicamentos deberán estar sanos y se tendrán en las mejores condiciones que sea posible. Se observarán escrupulosamente para su cuidado las normas más adecuadas, con lo que no será necesario emplear animales exentos de determinados gérmenes patógenos. Convendría, en cambio, no utilizar estirpes de notoria inestabilidad genética. Las jaulas de los animales estarán instaladas en locales de temperatura constante e iluminación adecuada, protegidos contra el ruido y contra otras perturbaciones posibles. Si no se pueden graduar la temperatura y la iluminación, será necesario tener en cuenta las variaciones estacionales de la actividad reproductiva de los animales. Las jaulas estarán fabricadas con arreglo a las normas óptimas de calidad. Se reducirá en lo posible el uso de plaguicidas y se tendrá muy presente, sobre todo en la administración de medicamentos que actúan sobre el sistema nervioso central, que los efectos nocivos de

algunos preparados se agravan si hay varios animales agrupados en una misma jaula. Se dará a todos los animales una alimentación adecuada y como la administración de ciertos medicamentos influye en el apetito, será necesario en esos casos ajustar en consecuencia la dieta de los animales testigo.

4. POSOLOGIA Y ADMINISTRACION DE LOS MEDICAMENTOS

4.1 Posología

La elección de las dosis iniciales adecuadas para los estudios teratológicos debe hacerse después de un detenido examen de los datos disponibles sobre la acción farmacológica y toxicológica de cada preparado. Dada la complejidad de las relaciones que existen entre la acción letal sobre el embrión, la toxicidad para la madre y las propiedades teratogénicas, hay que tener en cuenta que los efectos observados en el organismo de la madre pueden influir en los resultados del estudio y entorpecer su interpretación. En la mayoría de los casos, la posología se fijará tomando como base el peso corporal de los animales.

4.1.1 *Límites de variación de las dosis*

Las dosis de experimentación se deben elegir teniendo en cuenta las curvas dosis-efecto en el animal adulto (en función, por ejemplo, de la máxima dosis tolerada, de la DL_{50} o de la DE_{50}). Aunque la dosis máxima puede fijarse en un nivel tóxico pero no letal para la madre, en lo posible la mínima ha de surtir efectos clínicos significativos.

Es recomendable el uso de una o varias dosis intermedias. Si las dosis utilizadas no tienen ninguna acción teratogena ni son letales para el feto, pueden efectuarse pruebas suplementarias con dosis más altas hasta llegar al nivel letal para el feto o para la hembra grávida.

4.1.2 *Duración del tratamiento y momentos indicados para su administración*

Los ensayos de administración repetida permiten averiguar si un medicamento tiene efecto sobre el embrión o el feto. La administración en dosis únicas sirve en cambio para determinar el momento en que el medicamento ejerce su acción y el periodo de mayor susceptibilidad del organismo. Aunque parecería lógico administrar los medicamentos ensayados durante todo el periodo de la gestación ese proceder provoca en algunos casos grandes alteraciones del metabolismo de la sustancia administrada en el organismo de la hembra grávida y puede enmascarar por tanto los efectos teratogénicos eventuales. Convendrá, pues, completar las pruebas de administración repetida con ensayos de dosis aisladas en determinados

momentos que pueden corresponder a los periodos de susceptibilidad especial. Se supone que, en general, esos periodos coinciden con los procesos de organogénesis.

4.2 Vía de administración

Los ensayos de administración por la vía prevista para el uso clínico del medicamento estudiado son especialmente importantes, pero en la investigación intensiva de los posibles efectos teratogénicos conviene utilizar también otras vías. Si el medicamento se mezcla con los alimentos resulta difícil determinar la cantidad efectivamente ingerida por los animales; para evitar ese inconveniente se recomienda la administración del medicamento en cápsulas o con sonda gástrica cuando haya de utilizarse la vía oral. En este caso y en todos los demás importa determinar la velocidad de absorción del medicamento y si el metabolismo de la sustancia administrada varía según las vías de administración, habrá que ensayarlas todas.

4.3 Animales testigo

Para conseguir la igualdad de condiciones entre el grupo de animales de experimentación y el grupo testigo de cada ensayo, será necesario, por ejemplo, administrar a estos últimos un placebo adecuado (cápsulas vacías, dosis de excipiente, etc.) por el mismo método utilizado para administrar el medicamento a los animales del primer grupo.

5. OBSERVACION DE LOS ANIMALES

5.1 Personal

Las observaciones deben hacerse bajo la dirección de un especialista que conozca a fondo las características de las especies utilizadas en lo que respecta a la fisiología de la reproducción, la embriología y la anatomía. Si el laboratorio no dispone de una persona con esos conocimientos, no se emprenderán los ensayos mientras no se encuentre un especialista idóneo que se encargue de dirigir los trabajos o, cuando menos, de dar el oportuno asesoramiento. Una vez resuelto el problema de la dirección del ensayo, podrán confiarse el cuidado de los animales y el examen de las crías a técnicos debidamente preparados, que someterán todos los casos dudosos a la consideración del especialista para que éste resuelva lo que proceda. También serán de la incumbencia del especialista que dirija los ensayos el establecimiento o la adopción de métodos y técnicas apropiados, habida cuenta, en su caso, de los trabajos recientes aparecidos en las publicaciones científicas.

5.2 Cría de los animales

Se limitará en lo posible la duración de los apareamientos para que pueda determinarse con precisión suficiente el comienzo de la gestación. Cuando termine el periodo de apareamiento se comprobará mediante frotis vaginal o por otra técnica apropiada si se ha producido la inseminación. Se procurará calcular el momento de la fecundación y, si ello no fuera posible, se partirá del supuesto de que la gestación ha empezado inmediatamente después de la copulación. El uso de conejos para los ensayos presenta la ventaja de que puede determinarse con exactitud el momento de la ovulación de las hembras. Será conveniente en cualquier caso utilizar para cada ensayo hembras de peso y edad semejantes.

Los antecedentes de las hembras en materia de reproducción variarán en la práctica ; cuando haya que efectuar recuentos de cuerpos lúteos para determinar los abortos o los casos de implantación frustrada será preferible emplear hembras vírgenes, pero en los estudios de otros tipos puede ser conveniente utilizar animales de fertilidad comprobada. Se pesará a todas las hembras tan pronto como se haya verificado la inseminación y, ulteriormente, a intervalos regulares para determinar su estado de nutrición y de salud general. Es conveniente que cada hembra tenga su jaula individual para evitar los posibles efectos nocivos del hacinamiento y de las relaciones de grupo.

5.3 Administración del tratamiento

En la administración del tratamiento se procurará no someter los animales a manipulaciones excesivas, o a excitaciones y traumatismos innecesarios. La anestesia de los animales para evitar que forcejeen es una práctica que debe usarse con moderación y que, en caso de emplearse con los animales de experimentación, se utilizará también con los del grupo testigo. La pesada diaria de los animales después de la administración del medicamento permite seguir paso a paso el desarrollo de la gestación y la evolución del consumo de alimentos y del estado general de salud. Se practicará la autopsia de todas las hembras tratadas que mueran con objeto de determinar las causas de la muerte y de averiguar si se había iniciado la gestación. Se anotarán además los casos de hemorragias vaginales que no puedan atribuirse a la nidación, por si pudieran estar relacionadas con una reabsorción o un aborto.

5.4 Extracción de los fetos

Cuando es necesario examinar los fetos llegados casi a término hay que interrumpir la gestación unas horas o un día antes del momento presunto del parto a) para practicar el recuento de los puntos de reabsorción y de

los fetos macerados o muertos *in situ*; y b) para evitar que los fetos supervivientes sean devorados por la madre, como parece que suele ocurrir en algunas especies de mamíferos de laboratorio cuando las crías están moribundas o presentan malformaciones. La madre puede ser sacrificada u operada por cualquier método que no produzca traumatismos fetales indebidos. El examen del útero permitirá determinar el número de implantaciones y su localización; si ese número es menor que el de cuerpos amarillos, la diferencia corresponderá a óvulos eliminados antes de la implantación o a reabsorciones precoces. La mayoría de las implantaciones definitivas, si no todas, dejan un rastro — la « glándula metrial »¹ — aun cuando la muerte o la reabsorción del óvulo fecundado hayan sobrevenido poco después de la concepción; el número de reabsorciones corresponderá a la diferencia entre el de implantaciones y el de fetos casi a término. Las secuelas de la reabsorción van desde la presencia de glándulas metriales hasta la de fetos más o menos macerados y placentas en involución más o menos avanzada.

5.5 Examen de los fetos

Una vez contados y pesados todos los fetos vivos o muertos, se determina su sexo, se investiga la presencia de malformaciones externas y se practican las autopsias o se procede a la fijación para el estudio ulterior de los órganos internos. Se anotarán las variaciones de la cantidad y el color del líquido amniótico y si se observará en la placenta cualquier indicio de anomalía, se determinará el peso del órgano y, si las circunstancias lo permiten, se practicarán los oportunos análisis histológicos. En *todos* los fetos fijados se investigará la presencia de anomalías internas, sea examinando la estructura del esqueleto, sea practicando la autopsia o estudiando cortes histológicos que pongan de manifiesto la estructura de los órganos. El procedimiento de practicar a mano cortes con una navaja en los fetos de roedores o de conejos es rápido y bastante preciso para las encuestas, pero las anomalías de estructura o diferenciación de los tejidos tendrán que investigarse mediante el examen microscópico de cortes histológicos preparados con arreglo a los métodos habituales. El número de animales que deberán examinarse por uno u otro procedimiento dependerá de los tipos de malformación y de otras consideraciones; en cualquier caso, se reservará en cada grupo de experimentación una proporción significativa de fetos para el examen de la estructura del esqueleto y se investigarán en el resto del grupo las anomalías de estructura de los órganos.

Si se teme que al término de la gestación se haya producido la reabsorción total del feto, puede ser útil la extracción del embrión en las primeras

¹ Las glándulas metriales son nódulos visibles, muy vascularizados, que se encuentran en la unión del útero con el mesometrio.

fases de su desarrollo para examinarlo antes de que muera, pero, en general, será preferible modificar la dosis para evitar ese riesgo. Los resultados de todas las observaciones mencionadas deben anotarse en detalle en fichas de modelo uniforme.

5.6 Examen de las crías vivas

La posibilidad, cada vez más verosímil, de que los trastornos del desarrollo influyan en los parámetros bioquímicos y funcionales (incluso en el comportamiento) aconseja dejar que nazcan y que sobrevivan hasta la madurez sexual algunas crías en grupos de experimentación convenientemente elegidos. La experiencia disponible sobre la observación de los animales nacidos en esas condiciones no es suficiente para proponer o recomendar el uso de ningún tipo de pruebas funcionales o bioquímicas de preferencia a otro. La utilidad de algunas pruebas se desprenderá inmediatamente de la acción farmacológica del medicamento ensayado; así, por ejemplo, la observación del comportamiento de los animales estará indicada en el uso de los medicamentos que actúan sobre el sistema nervioso central.

5.7 Criterios de malformación

El diagnóstico diferencial entre una anomalía insignificante y una verdadera malformación plantea un problema difícil; de ahí que todos los laboratorios deban determinar los límites de variación normales en las distintas estirpes de cada especie utilizada para la experimentación, empleando los mismos métodos que en los ensayos. Con ese objeto, lo mejor es completar el estudio sistemático de los animales testigo utilizados en cada prueba, con un registro en el que se anotarán todas las variaciones observadas en los grupos tratados y sin tratar, durante los estudios efectuados por métodos uniformes. También se determinará la frecuencia de las malformaciones espontáneas mediante el estudio sistemático de los animales de ambos grupos y, una vez administrado el tratamiento con la sustancia que se ensaye, habrá que considerar, por lo general, como malformaciones provocadas no sólo las que habitualmente se incluyen en esa categoría (paladar hendido, aplasia renal, pie zambo, etc.) sino también algunas anomalías excepcionales o poco frecuentes si la proporción de animales que las presentan excede de la observada en un grupo testigo.

Como no existe una continuidad entre esa norma hipotética y la desviación extrema, no es posible en buena lógica trazar una divisoria entre normalidad y anormalidad. La distinción entre anomalías insignificantes y malformaciones propiamente dichas es, por tanto, arbitraria y cada investigador debe establecer sus propios criterios, aplicables por igual a las malformaciones espontáneas y a las provocadas.

Los tratamientos que ocasionen un aumento apreciable de la frecuencia de malformaciones por relación al porcentaje de anomalías espontáneas se considerarán de acción teratogena presunta y será necesario determinar por métodos adecuados si el aumento observado tiene o no significación estadística. Cuando la incidencia de las malformaciones aumente en proporciones tan pequeñas que su significación no pueda determinarse sin emplear métodos estadísticos complicados, lo mejor será repetir la experiencia en un número mayor de animales. Algunos investigadores fijan arbitrariamente un mínimo de fetos por nivel de dosificación, por periodo de tratamiento y por medicamento ensayado. Así, por ejemplo, 10 ratas gestantes darán en general algo más de 100 implantaciones, número que puede considerarse como el mínimo indispensable para cada grupo de ensayo. Si los resultados de la experimentación son dudosos se aumentará el número de animales de cada grupo.

Las consideraciones que anteceden son valederas, sobre todo, para el caso de los pequeños roedores y de los conejos, pero conviene advertir que, en lo posible, deberán incluirse en la experimentación especies de mamíferos de mayor tamaño, por ejemplo perros, cerdos o primates; en efecto, la autopsia sistemática o el examen radiológico de los fetos de esos animales más grandes permiten un estudio más adecuado. Claro está que en el caso de esos mamíferos el número de animales de cada grupo de ensayo tendrá que ser inferior al utilizado en las pruebas con ratones, ratas o conejos, pero en general los ensayos con animales grandes se efectúan después de terminada la experimentación en especies de menor tamaño y no tienen muchas veces más objeto que la confirmación de los resultados iniciales. Se ha aludido ya en el presente informe a la necesidad de efectuar una serie de pruebas con animales, después de los ensayos sobre las especies de uso corriente en los laboratorios pero antes de la experimentación clínica; este proceder reviste especial importancia en el caso de los medicamentos que puedan administrarse a las mujeres embarazadas.

6. EVALUACION

6.1 Causas de error

Igual que en otros trabajos de experimentación biológica, hay en los estudios teratológicos un riesgo de error que se agrava cuando no se aplican rigurosamente los métodos establecidos y que puede falsear los resultados de la investigación.

Entre las causas de error están las condiciones deficientes en lo que respecta al cuidado de los animales en el laboratorio y la elección de animales en mal estado de salud. También cabe citar, por lo que respecta a los animales, el cuidado insuficiente o incluso los malos tratos, sea

antes de la experiencia, sea durante ésta o durante el periodo de observación.

La administración del tratamiento puede dar lugar a diferencias en la ingestión de alimentos entre los animales del grupo de experimentación y los del grupo testigo, con la alteración consiguiente (aumento o disminución) del desarrollo del feto y del peso de la madre en el primero de esos grupos.

La elección de estirpes o especies inadecuadas (por ejemplo, las que presentan una gran frecuencia de malformaciones espontáneas o las de resistencia notoria a la acción teratógena) puede llevar asimismo a conclusiones erróneas sobre la nocividad o la inocuidad de un medicamento cuyos efectos teratogénicos hayan quedado disimulados en la experimentación. Para evitar esos contratiempos, sería conveniente emplear sustancias teratógenas de referencia.

Otras causas de error en la interpretación de los resultados son la aparición de malformaciones espontáneas en determinadas estirpes y especies y el número insuficiente de animales en el grupo de experimentación y en el grupo testigo. La elección de los animales que han de componer esos grupos debe ser aleatoria para evitar el sesgo estadístico.

También puede llevar a conclusiones erróneas una elección desacertada de las pautas de dosificación; en efecto, si las dosis son demasiado bajas no permitirán la adecuada evaluación de los efectos teratogénicos y si son excesivamente altas hay el riesgo de que aparezcan efectos nocivos de otro tipo e incluso de que muera el feto, con lo que resultará imposible la investigación de la teratogenicidad. Asimismo, si no se determinan los periodos más apropiados para la experimentación ni las fases del desarrollo embrionario y fetal que coinciden con una susceptibilidad mayor a la acción teratógena, se corre el peligro de administrar el medicamento ensayado en un momento en el que ni siquiera los agentes teratógenos conocidos surtirían efecto apreciable.

Cuando no se orientan las observaciones a la apreciación de los parámetros adecuados cabe temer también que pasen inadvertidos ciertos efectos del medicamento. De ahí que sea indispensable investigar la presencia de malformaciones externas e internas y, en particular, de anomalías del esqueleto en los fetos de todos los grupos de experimentación. Sería asimismo un error sacrificar un número excesivo de fetos o de crías llegadas a término, con lo que no podrían observarse las posibles anomalías del desarrollo posnatal. Cuando sea necesario practicar observaciones posnatales se separará a las crías de la madre si ésta las descuida o no tiene leche suficiente para alimentarlas.

Uno de los errores más graves que pueden cometerse en los estudios teratológicos es no tomar en consideración todos los conocimientos disponibles sobre el metabolismo del medicamento y sobre su actividad farmacológica.

6.2 Significado de los ensayos sobre animales

La posibilidad de extrapolar al caso del hombre los resultados de los ensayos teratológicos efectuados sobre animales está todavía en tela de juicio. Una de las dificultades que entorpecen la interpretación de esos resultados es la relación de constante influencia mutua existente entre los dos sistemas biológicos que intervienen en el proceso de gestación: el de la madre y el del feto. Ello no obstante, es posible, en teoría, evaluar la acción teratogena observada experimentalmente, tomando como base el porcentaje de malformaciones, la constancia de los resultados obtenidos en experiencias sucesivas y las dosis de efecto teratogénico apreciable. Cuando se utiliza para la experimentación un mínimo de tres especies de animales y sólo se observan esos efectos en una de ellas, la probabilidad de acción teratogena en el hombre puede considerarse pequeña.

La utilidad de la experimentación preclínica en animales resulta innegable si se considera que los medicamentos teratogénos para el hombre lo son también para otros mamíferos y que la inversa puede verificarse también en determinadas condiciones de tiempo y de dosis. Ello no obstante, las dosis necesarias para comprobar la acción teratogena en los animales son por lo común bastante elevadas.

Se ha demostrado, por otra parte, que la respuesta del embrión a las influencias exógenas depende en gran medida de la constitución genética y varía no sólo de una especie a otra sino de una a otra estirpe de la misma especie e incluso de un animal a otro de la misma estirpe. Las causas inmediatas de las diferencias interespecíficas de reacción a los agentes teratogénos son en buena parte desconocidas, pero acaso obedezcan, como sostienen algunos autores, a diferencias en las vías de metabolización o a la formación de metabolitos nocivos en ciertas especies y no en otras.

7. PERSPECTIVAS

7.1 Intercambio de información

Mientras no se conozcan más a fondo los procesos bioquímicos y fisiológicos fundamentales del desarrollo embrionario y fetal seguirá siendo difícil la interpretación de los resultados obtenidos en la experimentación sobre animales. Aunque ese tipo de experimentación preclínica es el que ofrece, de momento, mejores perspectivas para la solución del problema de la teratogénesis medicamentosa en el hombre, es innegable que el ensayo en animales no da ninguna garantía de inocuidad absoluta, sino que, a lo sumo, permite presumir que la acción de un medicamento sobre el embrión humano será semejante a la observada en el laboratorio en los embriones de ésta o de otra especie. Es preciso, por tanto, ejercer sobre los medica-

mentos nuevos una rigurosa vigilancia durante los primeros años de su uso clínico, aunque se haya investigado a fondo su posible acción teratogena mediante ensayos en animales.

Se ha recomendado que los organismos nacionales competentes y las comisiones de inspección farmacológica organicen un sistema adecuado para el pronto intercambio de los datos disponibles sobre los efectos nocivos de los medicamentos. Convendría a este respecto que mientras no se haya establecido el oportuno programa internacional se dedicara atención muy especial a los efectos teratogénicos comprobados o presuntos.

También es de importancia capital la intensificación de los esfuerzos desplegados para que los médicos estén al corriente de los riesgos teratogénicos que puedan presentar los medicamentos nuevos, aun los que hayan sido objeto de experimentación previa por métodos admitidos.

Es de todo punto indispensable que se prosiga y se fomente el estudio epidemiológico de las malformaciones congénitas con objeto de reunir los datos de base necesarios para una evaluación objetiva de las relaciones de causa a efecto observadas en la vigilancia farmacológica.

Los contactos entre los medios profesionales y administrativos de cada país o de países distintos podrían mejorarse organizando conferencias, simposios y seminarios nacionales e internacionales y estableciendo cauces de comunicación adecuados. Es de esperar asimismo que esas reuniones permitan llegar a un acuerdo internacional sobre los métodos de ensayo y de investigación epidemiológica más apropiados para reducir el riesgo de teratogénesis en el uso de medicamentos.

7.2 Investigaciones en colaboración

Nadie pone ya en duda que los ensayos de inocuidad de los medicamentos son un asunto de interés internacional. Es frecuente, en efecto, que las preparaciones farmacéuticas fabricadas en un país se exporten a otros, y la necesidad de establecer criterios y métodos de ensayo internacionalmente aceptables justifica e incluso impone la organización y el fomento de investigaciones en escala internacional.

Entre los problemas que deben ser objeto de esas investigaciones destacan los siguientes :

Metabolismo embrionario en general y, más particularmente, metabolismo de los medicamentos y de ciertas sustancias bioquímicas parecidas a fármacos de uso corriente.

Procesos inmunológicos que pueden afectar al embrión y a su relación con el organismo materno.

Perturbaciones provocadas por los medicamentos o por sus metabolitos en el funcionamiento normal de la placenta de las hembras de mamíferos durante el periodo de susceptibilidad del embrión a los agentes teratogénos.

Bioquímica y metabolismo en las primeras fases de la vida embrionaria en distintas especies de mamíferos. El objeto de estos últimos estudios sería determinar si las semejanzas entre especies distintas son mayores en la vida embrionaria que en la vida posnatal.

Utilidad de los ensayos practicados en cultivos de células, de tejidos y de órganos con medicamentos de acción teratógena comprobada y presunta, para la evaluación teratológica de las preparaciones farmacéuticas.

Mecanismos fundamentales de la teratogénesis en el organismo, en la célula y en las estructuras subcelulares.

Un programa de investigación en gran escala que abarcara estudios de larga duración sobre problemas tan variados tendría que basarse en la centralización de los trabajos de laboratorio en un solo establecimiento, con arreglo a un plan preciso y adecuado y en coordinación con las actividades nacionales correspondientes.

La institución central debería disponer de especialistas en las siguientes disciplinas científicas :

Embriología, particularmente por lo que respecta a la bioquímica, la inmunología y la farmacología embriológica y a la microscopia electrónica.

Citogenética.

Zootecnia (cría de animales en gran escala, incluso primates).

No es probable que ningún programa nacional pueda abarcar eficazmente todas las cuestiones que deben investigarse sin pérdida de tiempo. Ello no obstante, deberá fomentarse por todos los medios la organización de investigaciones en escala nacional.

8. CONCLUSIONES

1) Ninguno de los métodos actuales de experimentación preclínica de los medicamentos en animales ofrece garantías absolutas de inocuidad teratológica en la administración a mujeres gestantes. Parece posible, sin embargo, reducir considerablemente los riesgos de teratogénesis si se perfeccionan bastante los métodos de investigación preclínica y, en especial, si se eligen con acierto las especies de animales de experimentación, el momento de la administración experimental del medicamento y la posología.

2) Para que puedan extrapolarse con más seguridad al caso del hombre los resultados de la experimentación teratológica, convendrá observar los procedimientos recomendados en el presente informe y eliminar las causas de error mencionadas anteriormente. Esos resultados serán todavía más fidedignos cuando las investigaciones hayan esclarecido los mecanismos fundamentales de la teratogénesis. La grave insuficiencia de los conocimientos actuales sobre distintas cuestiones relacionadas con la teratología

hace imprescindible la ejecución de extensos programas de investigaciones para reducir al mínimo el riesgo de la teratogénesis de origen medicamentoso en el hombre.

3) La limitación de los conocimientos disponibles sobre los procesos fundamentales del desarrollo y sobre los mecanismos de la acción teratogena de ciertos medicamentos por una parte y, por otra, la necesidad de establecer criterios y métodos de experimentación internacionalmente aceptables, obligan a organizar programas internacionales a largo plazo de investigaciones multidisciplinarias.

4) Los estudios teratológicos sobre primates deben ocupar un lugar destacado en los programas de investigación.

5) Como la experimentación sobre animales no puede dar una certeza absoluta de inocuidad teratológica en el hombre, es indispensable ejercer una rigurosa vigilancia sobre los medicamentos en los primeros años de su uso clínico.

6) El estudio epidemiológico de las malformaciones congénitas es complemento indispensable de la vigilancia de los efectos nocivos de los medicamentos.

7) Deberán intensificarse los esfuerzos desplegados para informar a los médicos de los riesgos de teratogénesis que puedan presentar los medicamentos, incluso los que hayan superado las pruebas de selección admitidas.

8) Antes de prescribir un tratamiento a las mujeres en edad de concebir habrá que sopesar detenidamente las ventajas terapéuticas de los medicamentos y el riesgo de teratogénesis, sobre todo si no se puede descartar la posibilidad de una gestación en curso.

NOTA

El Grupo Científico da las gracias al Profesor D. H. M. Woollam, de la Universidad de Cambridge (Inglaterra), por la utilísima documentación que ha preparado para las deliberaciones.
