

Artículos originales cortos

Evaluación teratogénica del interferón alfa-2b recombinante humano en ratas Long Evans

M. D. RODRÍGUEZ,¹ L. MARTÍNEZ² y H. GARCÍA¹

¹ Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Apartado 6880, La Habana 6, Cuba

² División de Híbridos y Modelos Animales, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Apartado 6162, La Habana 6, Cuba

Recibido en octubre de 1989

Aprobado en marzo de 1990

RESUMEN

Se administró por vía intraperitoneal interferón humano α -2b recombinante a ratas Long Evans gestantes, durante el período de organogénesis. No hubo efectos significativos sobre el número de cuerpos lúteos, implantaciones, fetos vivos, reabsorciones, y la talla y el peso fetales. El examen de los fetos no reveló malformaciones externas, viscerales ni esqueléticas. Se concluye que el interferón no demostró efectos reproductivos adversos, aunque la ausencia de receptores especie-específicos limita el poder de este modelo experimental.

SUMMARY

Human recombinant alpha-2b interferon was given intraperitoneally to pregnant Long Evans rats during the organogenesis. There was no significant effect on the number of corpora lutea, implantations, live fetuses, resorptions and fetal size and weight. Examination of fetuses for external abnormalities and skeletal or visceral malformations, did not reveal any changes. It is concluded that interferon is devoid of adverse reproductive effects in these rats although the absence of species-specific receptors limits the power of this experimental model.

INTRODUCCION

La ingeniería genética y la biotecnología han hecho posible, en gran escala, la obtención de moléculas con potencialidades terapéuticas y con alto grado de pureza. Entre estas moléculas se encuentran los interferones, proteínas que poseen propiedades antivirales, antiproliferativas e inmunorreguladoras (Mannering y Deloria, 1986).

En Cuba se han logrado resultados alentadores en el tratamiento de diversas enfermedades (Limonta *et al.*, 1984; Selman-Houssein *et al.*, 1986), con el uso de interferón producido en el país.

Entre las pruebas de inocuidad establecidas para los productos biotecnológicos se encuentran las de toxicología reproductiva (Teelman *et al.*, 1986; French Ministry of Social Affairs, 1984), que incluyen el estudio de los posibles efectos teratogénicos.

En esta investigación se evalúa el efecto del interferón α -2b recombinante sobre el desarrollo embrionario de la rata.

MATERIALES Y METODOS

El interferón α -2b recombinante fue suministrado por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología en bulbos que contenían 3×10^6 UI cada uno.

Se usaron ratas Long Evans de ambos sexos (CENPALAB, C. de La Habana) de tres meses de nacidas, de entre 200 y 280 g de peso. Las hembras fueron apareadas durante toda la noche con los machos en la relación 2:1 y la cópula fue verificada por exudados vaginales. Las ratas fueron mantenidas en condiciones convencionales durante el experimento, recibiendo alimento comercial y agua *ad libitum*.

Las ratas de los grupos tratados con interferón se inyectaron por vía intraperitoneal con 1×10^6 y 3×10^6 UI/kg/día del producto, desde el 6^{to} hasta el 15^{to} día de la gestación (el día que se observaron espermatozoides en el exudado vaginal fue considerado día cero de la preñez).

A un grupo de cinco ratas preñadas se les administró aspirina por intubación gástrica en dosis de 250 mg/kg/día los días 8, 9 y 10 de la preñez. Como la aspirina es un teratógeno de efectividad conocida en las ratas (Beall y Klein, 1977), este grupo sirvió como control positivo.

Las ratas fueron observadas diariamente para detectar cualquier signo de toxicidad. Se registró el peso materno los días 0, 7, 15 y 19 de la preñez.

El día 19 de la preñez las ratas fueron sacrificadas. Se anotó el número de cuerpos lúteos, implantaciones, fetos vivos y muertos, reabsorciones, el peso y la longitud cráneo-caudal de cada feto. Todos los fetos vivos fueron revisados, en busca de malformaciones

externas y posteriormente la mitad fue evaluada para malformaciones viscerales mediante la técnica de secciones transversales de Wilson, 1965. El resto se fijó en alcohol y posteriormente fue teñido con rojo alizarina (Dawson, 1926) para examinar las alteraciones del esqueleto.

La evaluación estadística de los resultados se llevó a cabo utilizando un análisis de varianza de clasificación simple. Para este estudio los fetos muertos se incluyeron en el grupo de las reabsorciones embrionarias.

RESULTADOS

La tabla 1 resume los resultados de este trabajo.

No se observaron signos de toxicidad materna durante el tratamiento. El incremento del peso materno en los grupos tratados con interferón no difirió significativamente de la del control.

El interferón no produjo efectos embriotóxicos o fetotóxicos que afectaran el número de cuerpos lúteos, implantaciones, fetos vivos, reabsorciones, ni la talla y el peso fetales.

No se observaron alteraciones morfológicas externas en los fetos expuestos a interferón (tabla 1).

Tabla 1
INDICES REPRODUCTIVOS DE RATAS LONG EVANS DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE INTERFERON DURANTE LA ORGANOGENESIS^a

	Control	Interferón α -2 recombinante (UI/kg de peso/día)	
		3×10^6	1×10^6
Madres	18	20	17
Ganancia de peso materno (g)	54,9 \pm 26,8	68,8 \pm 22,0	57,2 \pm 17,1
Cuerpos lúteos/madre	12,3 \pm 3,0	12,0 \pm 4,2	14,2 \pm 2,2
Implantaciones/madre	11,1 \pm 3,2	11,3 \pm 2,2	12,7 \pm 1,8
Fetos vivos/madre	10,9 \pm 3,1	11,0 \pm 4,5	12,2 \pm 1,9
Reabsorciones/madre	0,1 \pm 0,5	0,2 \pm 0,5	0,4 \pm 1,0
Peso fetal (g)	1,9 \pm 0,11	2,0 \pm 0,29	1,9 \pm 0,18
Longitud cráneo-caudal (cm)	2,7 \pm 0,12	2,8 \pm 0,26	2,7 \pm 0,14

^aNo hubo diferencias significativas respecto al control $p < 0,05$.

Se examinaron 227 fetos tratados con interferón y 104 controles, sin que fueran evidentes malformaciones viscerales. Los 201 fetos tratados y los 93 controles que fueron objeto del examen para anomalías esqueléticas, tampoco presentaron alteraciones.

En el grupo que recibió aspirina se observaron las malformaciones clásicas producidas por esta droga en la rata (figura 1).

de que estas proteínas pueden ejercer efectos tóxicos sobre la progenie, tal como ha sido establecido para los compuestos hormonales (Teelman *et al.*, 1986).

El tratamiento de las ratas preñadas se realizó en un período crítico para el desarrollo del embrión, pero de sólo 10 días de duración, lo que permitió evitar las reacciones inmunogénicas demostradas a partir de la segunda o tercera semanas de

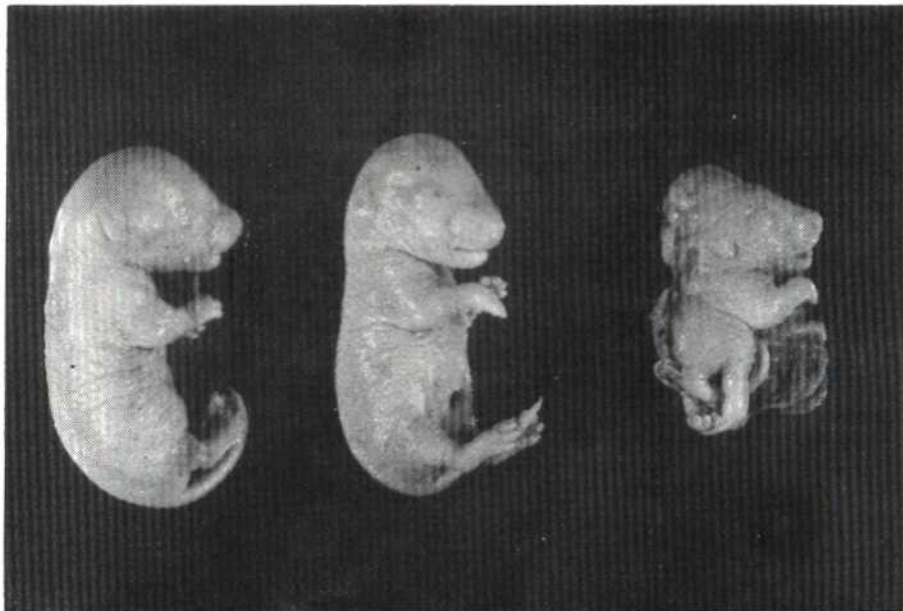


FIG. 1. Fetos de rata de 19 días de desarrollo. De izquierda a derecha: control, tratado con interferón α -2b recombinante, tratado con aspirina.

DISCUSION

La realización de las pruebas preclínicas de inocuidad a los productos biotecnológicos plantea una nueva situación en toxicología, pues se trata de proteínas especie-específicas que se prueban en animales no homólogos, con la posible reacción inmunológica (Teelman *et al.*, 1986).

En lo que se refiere a las pruebas de toxicología prenatal, se parte del principio

administración del interferón a ratas (Trown *et al.*, 1986).

Los resultados indican que el interferón humano α -2b recombinante carece de efectos adversos sobre la organogénesis de la rata.

Nuestros resultados no permiten asegurar la inocuidad de este interferón sobre el desarrollo del embrión humano, ya que quedan por explorar los efectos adversos que puede presentar esta proteína al administrarla en concentraciones que excedan los rangos fisiológicos.