

# *Análisis comparativo de los efectos de tres familias de farmacos en la gestación*

\* Patricia C. de Trigo   \*\* Rhida Ampuero   \*\* María Angélica Montenegro  
\* Roxana Miranda de Escobar

\* Departamento Embriología y Desarrollo Instituto Boliviano de Biología de Altura.  
\*\* Departamento Morfología Experimental. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

## ABSTRACT

*The present study analyzed the effects of three families of drugs widely used in clinical practice, on the development of the mouse embryo and the results were compared with the effects observed in human beings.*

*The drugs were injected into pregnant mice of the AKR-strain; between the 7th and 14th day of gestation, which corresponds to the fourth to eighth week of human development (metamorphic period).*

*Four experimental groups were made:*

- *Glucocorticoids: Betamethasone and Dexamethasone*
- *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Naproxen, Sulindac, Indomethacin and Phenylbutazone.*
- *Tranquilizers: Diazepam, Clonazepam, Clorpromazine and Lorazepam.*
- *Controls: saline solution.*

*The doses used were similar to the usual therapeutic doses given to man, based on body weight.*

*The drugs induced different anomalies and the frequency and degree of malformations was dependent on the dose used and on the stage of development at the moment of treatment.*

*Our results and the comparisons with the observations in human beings, prove the multifactorial etiology of most congenital malformations in which the genomic factor plays an important role and indicate that it is not possible to extrapolate to man all observations made in laboratory animals.*

## RESUMEN

En este trabajo se analizaron los efectos de 3 familias de drogas, (ampliamente usadas en el práctica clínica), en el desarrollo del embrión de ratón y los resultados obtenidos se compararon con los efectos observados en el ser humano. Las drogas se inyecta-

ron en ratones preñados de la cepa AKR entre los días 7 y 14 de gestación, lo cual corresponde de la cuarta a octava semana del desarrollo humano (período metamórfico).

Se hicieron 4 grupos experimentales:

- GLUCOCORTICOIDES - Betametasona y Dexametasona.
- DROGAS ANTIINFLAMATORIAS NO ESTEROIDALES: - Naproxeno, Sulindaco, Indometacina y Fenilbutazona.
- TRANQUILIZANTES: - Diazepam, Clonazepam, Clorpromazina y Lorazepam.
- CONTROLES: - Solución salina.

Las dosis usadas fueron similares a las dosis terapéuticas usuales dadas al hombre, sobre la base de peso corporal. El tratamiento con las drogas indujo diferentes anomalías y la frecuencia y grado de las malformaciones dependió de la dosis usada y del estado de desarrollo en el momento del tratamiento.

Nuestros resultados y las observaciones en el ser humano, comprueban la etiología multifactorial de la mayoría de las malformaciones congénitas en las cuales el factor genómico juega un papel importante e indica que no es posible extrapolar al hombre todas las observaciones hechas en animales de laboratorio.

## INTRODUCCION

El desarrollo embrionario consiste en una compleja serie de sucesos altamente integrados que comprenden desplazamientos celulares, inter-acciones de tejidos y proliferación celular.

Estos procesos pueden ser sensibles a influencias genéticas y ambientales lo que ocasiona alteraciones congénitas. Estas ocurren espontáneamente en todas las especies aunque varían en su incidencia y localización (1).

Por otra parte, se ha demostrado que existen diferencias de susceptibilidad dentro de una misma especie incluyendo la especie humana donde hay razas más susceptibles que otras. Así por ejemplo, algunas malformaciones como el labio leporino con o sin fisura palatina, se producen en diversas especies animales y entre éstas en algunas cepas con mayor incidencia que en otras (2-3). Existen también en la especie humana diferencias en la incidencia de estas malformaciones. Numerosos estudios muestran en general, a las poblaciones de origen mongoloide con mayores prevalencias que las de origen caucasoide y más aún que las de origen negroide (4). Aún más, se ha observado que los países latinoamericanos de la cuenca del pacífico (Chile, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia), muestran mayores porcentajes de estas anomalías, con respecto a países del lado oriental (Argentina, Uruguay y Brasil).

La mayoría de las malformaciones tienen una causa multifactorial, es decir, se deben a una interacción genético-ambiental en el cual existe una predisposición genética y factores desencadenantes ambientales y es esta predisposición la que se hereda, no el defecto mismo. Desde este punto de vista, los factores ambientales y entre éstos las drogas y medicamentos son

importantes como desencadenantes de estas anomalías.

Como estas malformaciones constituyen un problema de salud pública, nos propusimos analizar los efectos de tres familias de fármacos de amplio uso en la práctica clínica, en la embriogénesis del ratón y compararlos con efectos observados en el desarrollo embrionario humano.

## MATERIAL Y METODO

Se utilizaron hembras grávidas de ratón (*Mus musculus*), en una etapa de la gestación del ratón (7 a 14 días) equivalente al período comprendido entre la 4a. y la 8a. semana del desarrollo embrionario humano (períodos somítico y metamórfico). A las hembras se les administró intraperitonealmente 0.2 ml de una solución con el fármaco en estudio. Se hicieron 4 grupos experimentales:

1. GLUCOCORTICOIDES - Betametasona (40 ug) y Dexametasona (50 ug).
2. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES: - Naproxeno (150 ug); Sulindaco (100 ug), Indometacina (100 ug) y Fenilbutazona (100 ug)
3. TRANQUILIZANTES: - Diazepam (200 ug), Clonazepam (10 ug), Clorpromazina (1 ug) y Lorazepam (0.5 ug).
4. CONTROL: - Suero fisiológico

Las dosis utilizadas correspondieron a las dosis terapéuticas usadas en la clínica médica humana y veterinaria en base al peso corporal.

Las hembras se sacrificaron a los 17 días de gestación y se estudiaron los embriones macro y microscópicamente. Para esto se fijaron en Bouin, se incluyeron en parafina y se hicieron cortes seriados que se tiñeron con Hematoxilina-Eosina y Azul de Alcian.

Los datos en la especie humana se obtuvieron de la bibliografía internacional.

## RESULTADOS

Todas las drogas utilizadas son teratogénicas en ratón observándose en los distintos grupos experimentales, diferentes anomalías (Tabla 1). El tipo de anomalía y la proporción en que aparece depende de la droga y del momento en el cual se efectuó el tratamiento.

Los glucocorticoides inducen alto porcentaje de fisura velopalatina (Figs. 1 y 2), lo mismo que los antiinflamatorios no esteroideos (ANE) (Fig. 3), cuando la droga se administra a los 13 días de gestación, lo que equivale a las 6 semanas del desarrollo embrionario humano. Con algunas de estas últimas drogas (Naproxeno y Sulindaco), se observa además espina bífida. (Fig. 4). Administradas en etapas más tempranas del

desarrollo sin embargo, los ANE no tienen efecto teratogénico. El mayor efecto se obtiene con Sulindaco, en cambio la Indometacina casi no tiene efecto produciendo solo tres fisuras (Tabla 1).

Los tranquilizantes inducen diferentes tipos de

alteraciones entre ellas fisura palatina, hernia umbilical (Fig. 5) alteraciones del sistema nervioso central y defectos oculares (Figs. 6, 7 y 8). El Lorazepam es la droga más teratogénica y el Clonazepam la que tiene el efecto menor (Tabla 1).

TABLA 1

DROGA	DOSIS (ug)	EDAD EMBRI. (días)	Nº EMBRIONES total	Nº EMBRIONES normales	Nº EMBRIONES reabsorbidos	Nº EMBRIONES malformados	PRINCIPALES ANOMALIAS
Naproxeno	150	13 - 14	113	77	14	22	Fisura velopalatina espina bífida
Naproxeno	150	11 - 12	20	19	1	—	
Sulindaco	100	13 - 14	122	84	5	33	Fisura velopalatina, espina bífida
Sulindaco	100	11 - 12	22	20	2	—	
Indometacina	100	13 - 14	105	96	6	3	Fisura velopalatina
Fenilbutazona	100	13 - 14	118	70	4	44	Fisura velopalatina
Betametasona	40	13	86	73	—	13	Fisura velopalatina
Dexametasona	50	13	68	56	—	12	Fisura velopalatina
Clonazepam	10	7 - 10	7	2	5	—	
Clonazepam	10	12 - 14	49	39	6	4	Fisura velopalatina, Tej. graso aumentado
Diazepam	200	7 - 11	24	24	—	—	
Diazepam	200	12 - 14	40	29	—	11	Hernia umbilical
Clorpromazina	1	7 - 10	4	—	4	—	
Clorpromazina	1	11 - 13	14	—	14	—	
Lorazepam	0.5	10 - 12	36	—	—	36	Alteraciones del globo ocular, del SNC, hern. um.
Lorazepam	0.5	13 - 14	58	14	4	40	Ceguera, alterac. globo ocular y SNC
Suero Fisiológico		10 - 14	97	95	2	—	

## DISCUSION

En los distintos grupos experimentales se observaron diferentes anomalías en proporción variable, dependiente de la droga y del momento en el cual se efectuó el tratamiento.

Con los glucocorticoides, las anomalías afectaron al desarrollo de la región palatina induciendo altos porcentajes de fisura velopalatina. Estos efectos son comparables con las fisuras relacionadas con situaciones de stress que se observan en la especie humana (5) y con algunos casos de fisuras producidas por efecto directo de glucocorticoides.

Los antiinflamatorios no-esteroidales alteran los procesos de fusión de distintos esbozos embrionarios inhibiendo la muerte de las células epiteliales de estos esbozos (6). Estas drogas inducen alto porcentaje de fisura palatina y espina bífida en la descendencia. No hay efectos similares reportados para la especie humana de estos agentes, aunque algunos investigadores han observado cierre prematuro del ductus arterioso e insuficiencia tricuspídea en recién nacidos

cuyas madres recibieron Indometacina durante la gestación (7). Nuestras observaciones indicaron que la droga más teratogénica es el Sulindaco, en tanto que la Indometacina casi no tiene efecto. Esto puede estar relacionado con el pasaje transplacentario de la droga, que es casi nulo para la Indometacina en ratón (8), en cambio es alto en la especie humana (9).

Con los tranquilizantes se obtuvo un enorme aumento de las reabsorciones embrionarias y diferentes alteraciones. Así, el Clonazepam induce fisura velopalatina y el Lorazepam produce alteraciones del Sistema Nervioso Central y defectos oculares. Las drogas más teratogénicas con el Lorazepam y la Clorpromazina. Con esta última se produce muerte intrauterina. En la especie humana se han reportado diversas anomalías con este tipo de drogas.

Así por ejemplo, con meprobamato y clordiazepóxido se han observado cardiopatías congénitas y defectos del sistema nervioso (10) y con el diazepam, otro tranquilizante derivado del diazepam se producen además fisuras orales. No existen datos con respecto al Lorazepam y Clonazepam.



Fig. 1. Fisura velopalatina producida por un glucocorticoide (Dexametosona). (15 X).

Fig. 2. Fisura velopalatina producida por un glucocorticoide (Betametazona) vista en corte frontal. Hematoxilina - Azul de Alcían. (40 X).

Fig. 3. Fisura velopalatina producida por efecto de un antiinflamatorio no esteroideal. (Fenilbutazona) (18X).

Fig. 4. Espina bífida con meningocele producida por un antiinflamatorio no esteroideal. (Sulindaco) (12 X).

Fig. 5. Corte sagital de un embrión de 18 días de gestación que muestra una hernia umbilical producida por Diazepam (30 X) H-E - azul Alcían.

Fig. 6. Corte histológico que muestra hidrocefalia producida por efecto de Lorazepam H-E azul Alcían (40X)

Fig. 7. Microftalmia y alteraciones del SNC producidas por Lorazepam. Corte sagital de embrión de 18 días de gestación. H-E azul Alcían (30 X)

Fig. 8. Microftalmia producida por Lorazepam. Corte frontal de Embrión de 18 días de gestación. H-E azul Alcían (60 X).

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en nuestros experimentos y las observaciones en la especie humana, son

una prueba más de la causa multifactorial de la mayoría de las malformaciones congénitas. Como la base genética juega un papel importante, la extrapolación al hombre debe hacerse con cautela.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- JOHNSTON M.C., MORRIS G.M., KUSHNER, D.C. and BINGLE G.J. Abnormal organogenesis of facial structures. In: Handbook of Teratology. J. Wilson and C. Fraser (Eds.) Plenum Press. N. York. 1977.
- 2.- FRASER F.C. The genetics of cleft palate. Am. J. Hum. Genet. 85: 289-291, 1970.
- 3.- JURILOFF D.M. Differences in frequency of cleft lip among the A strains of mice. Teratology 25: 361-367, 1982.
- 4.- GORLIN R.J., CERVENKA J. and PRUZANSKY S. Facial clefting and its syndromes. Birth defects. Original article series. The Nat Found. March of Dimes. The Williams and Wilkins Co., 7: 3-10, 1971
- 5.- ROSENZWEIG S. Psychological stress in cleft palata etiology. J. Dent Res. 45: 1585-1593, 1966.
- 6.- MONTENEGRO M.A. and PAZ DE LA VEGA Y. Light and electron microscopic study on the effect of Phenylbutazone on developing mouse palatal epithelium in vitro. Arch. oral Biol. 27: 721-725, 1982.
- 7.- MANCHESTER D., MARGALIS H. and SHELDON R.E. Possible association between maternal indomethacin therapy and primary pulmonary hipertensión of the newborn Am. J. Obstet. Gynecol. 126: 467-469, 1976.
- 8.- KLEIN K., SCOTT W., CLARK K. and WILSON J. Indomethacin placental transfer, citotoxicity and teratology in the rat. Am Obstet. Gynecol 141: 448-451, 1981.
- 9.- AKBARALY R., LENG J., BRACHET-LIERMAIN A., WHITE P. and LACLAU-LACROUTS B. Passage-trans-placentaire de quatre anti-inflammatoires J. Gyn. Obst. Biol. Reprod. 10: 7-11, 1981.
- 10.- WILSON J.G. Embryotoxicity of drugs in man. In: Handbook of Teratology Wilson, J. And Fransser, J.C. (Eds): Plenum Press. N. York.