

UNIVERSIDAD NACIONAL "JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN"

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



DESARROLLO DE MODELOS IN VITRO PARA EL ESTUDIO DE
TERATOGENESIS

Curso:

Genética y embriología

Docente:

Dr. Darío Vásquez Estela

Alumna:

Rivera Lizarraga Virginia Nicole

Huacho 2025

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	3
Objetivo general:.....	4
Objetivos específicos:.....	4
Metodología:	4
DESARROLLO.....	5
Definición de modelos in vitro para teratogénesis.....	5
Tipos de modelos in vitro aplicados a teratogénesis	8
Cultivos de células madre pluripotentes	8
Ensayos validados de embriotoxicidad específica.....	10
Sistemas organotípicos y modelos 3D.....	15
Causas de la teratogénesis y su evaluación mediante modelos in vitro	20
Mecanismos de Acción de los Teratógenos y su Evaluación Detallada In Vitro.....	20
Consecuencias clínicas asociadas a la teratogénesis	26
Defectos Congénitos Estructurales: Manifestaciones Visibles al Nacimiento	26
Alteraciones Funcionales y Metabólicas: Consecuencias Ocultas y a Largo Plazo	28
Diagnóstico y evaluación molecular mediante modelos in vitro.....	29
Aplicaciones terapéuticas y regulatorias actuales	32
Aplicaciones terapéuticas futuras.....	33
CONCLUSIÓN.....	34
Importancia en la Práctica Médica y Salud Pública: Protegiendo el Futuro	35
Futuras Líneas de Investigación y Avances Esperados: Hacia la Predicción Completa.....	37
BIBLIOGRAFÍAS.....	39
ANEXOS.....	40

INTRODUCCIÓN

El estudio de la teratogénesis —proceso mediante el cual ciertos agentes químicos, físicos o biológicos provocan malformaciones congénitas durante el desarrollo embrionario— ha sido históricamente abordado mediante modelos animales in vivo. Sin embargo, estos modelos presentan limitaciones importantes: diferencias interespecie, altos costos, implicaciones éticas y tiempos prolongados de análisis. En este contexto, los modelos in vitro han emergido como una herramienta clave para investigar los mecanismos moleculares y celulares de la teratogénesis con mayor precisión y eficiencia (Piersma et al., 2017).

Este tema es especialmente relevante en medicina, ya que los defectos congénitos representan una de las principales causas de morbilidad y mortalidad infantil. El uso de modelos in vitro permite evaluar la toxicidad de fármacos, cosméticos, contaminantes ambientales y otras sustancias durante las etapas críticas del desarrollo embrionario, sin poner en riesgo vidas humanas. Además, estos sistemas se alinean con los principios de las 3R (reemplazo, reducción y refinamiento) en experimentación animal, promoviendo prácticas más éticas y sostenibles (Adler et al., 2011).

Los avances recientes en biotecnología han permitido el desarrollo de sistemas celulares cada vez más complejos, como organoides, co-cultivos, y modelos tridimensionales derivados de células madre, que simulan con mayor fidelidad los procesos del desarrollo embrionario humano. Estas plataformas no solo permiten estudios mecanísticos detallados sobre teratogénesis, sino que también facilitan pruebas de alta sensibilidad para el cribado toxicológico de compuestos nuevos en la industria farmacéutica (Pamies & Hartung, 2017). Esta evolución representa una transición fundamental hacia un paradigma más humano-céntrico en la investigación biomédica.

Objetivo general:

Analizar el papel y la utilidad de los modelos in vitro en el estudio de la teratogénesis.

Objetivos específicos:

- Describir los principales tipos de modelos in vitro utilizados en estudios teratogénicos.
- Evaluar las ventajas y limitaciones de estos modelos frente a los modelos in vivo.
- Explorar aplicaciones clínicas y farmacológicas de estos sistemas en el contexto del desarrollo embrionario humano.

Metodología:

La información fue obtenida mediante la revisión de fuentes científicas actualizadas, incluyendo artículos revisados por pares, libros de embriología y toxicología del desarrollo, y bases de datos académicas como PubMed y Scopus.

DESARROLLO

Definición de modelos in vitro para teratogénesis

La teratogénesis, definida como el proceso mediante el cual agentes externos (químicos, físicos o biológicos) inducen alteraciones estructurales, funcionales o conductuales durante el desarrollo prenatal, afectando negativamente la viabilidad o la salud del organismo en formación (Piersma et al., 2017), representa un área crítica de estudio en la toxicología del desarrollo y la salud pública. Históricamente, la investigación en teratogénesis se ha fundamentado en el uso de modelos animales in vivo, que han sido instrumentales en la identificación de numerosos teratógenos y en la comprensión de los mecanismos subyacentes a sus efectos adversos. Sin embargo, a pesar de su relevancia, estos modelos presentan un conjunto de limitaciones inherentes que han impulsado una búsqueda activa y fructífera de alternativas más eficientes, éticas y predictivas.

Las limitaciones éticas son, sin duda, una de las principales preocupaciones. El uso extensivo de animales en experimentación, que a menudo implica la exposición a sustancias que pueden causar malformaciones graves o la muerte, genera profundas consideraciones sobre el bienestar animal y la necesidad de reducir, refinar y reemplazar estos estudios. Estas preocupaciones éticas no solo provienen de la comunidad científica, sino también de la sociedad en general, lo que ha llevado a una creciente presión para adoptar metodologías alternativas. Desde una perspectiva económica, los modelos animales son extraordinariamente costosos. El mantenimiento de colonias de animales de laboratorio, que incluye gastos en alimentación, alojamiento, atención veterinaria y personal especializado, es considerable. A esto se suman los costos asociados a la administración de los compuestos, el seguimiento detallado de los embarazos, la realización de necropsias y el análisis histopatológico y molecular de los tejidos, lo que limita significativamente el número de sustancias que pueden ser evaluadas exhaustivamente. Esta barrera económica ralentiza el proceso de evaluación de la seguridad de nuevos fármacos y productos químicos, y puede posponer la identificación de posibles teratógenos. Las limitaciones biológicas son igualmente

significativas y a menudo subestimadas. Las diferencias interespecíficas en el metabolismo de los xenobióticos, las vías de señalización del desarrollo y la susceptibilidad a los teratógenos hacen que la extrapolación directa de los resultados obtenidos en animales a la fisiología humana sea un desafío considerable. Por ejemplo, una sustancia que es teratogénica en ratones puede no serlo en humanos, o viceversa, debido a variaciones en la actividad enzimática del citocromo P450, las proteínas transportadoras o los receptores específicos. Además, la variabilidad genética dentro de las poblaciones animales y la complejidad intrínseca de los fenotipos teratogénicos, que pueden manifestarse como una amplia gama de malformaciones estructurales o alteraciones funcionales y conductuales, pueden introducir un ruido experimental significativo y dificultar la interpretación precisa de los datos. La larga duración de los estudios de desarrollo en algunos modelos animales también retrasa la obtención de resultados y la toma de decisiones informadas.

En respuesta a estas limitaciones, los modelos in vitro han surgido como una alternativa poderosa y cada vez más sofisticada. Estos sistemas experimentales se basan en el cultivo de células, tejidos u organoides, diseñados para replicar de forma parcial o integral eventos clave del desarrollo embrionario, pero en un entorno controlado y ex vivo. La belleza de estos modelos radica en su capacidad para aislar y manipular variables específicas del microambiente celular, permitiendo una observación detallada de los procesos biológicos fundamentales que subyacen a la teratogénesis. Los avances en biología celular y molecular han permitido el desarrollo de modelos que simulan de manera impresionante la diferenciación celular, la migración celular (esencial para la formación de tejidos y órganos), la proliferación celular (clave para el crecimiento embrionario) y, en el caso de los organoides, la organogénesis tridimensional, ofreciendo una ventana sin precedentes a los mecanismos del desarrollo.

La utilidad de los modelos in vitro se manifiesta en su capacidad para identificar efectos teratógenos de compuestos mediante el análisis de una amplia gama de parámetros. Esto incluye la evaluación de la viabilidad celular, que indica el impacto general sobre la supervivencia de las

células; los cambios morfológicos a nivel celular y tisular, que pueden revelar alteraciones en la forma, tamaño o estructura de las células y tejidos en desarrollo; la expresión de marcadores moleculares específicos, que actúan como indicadores de diferenciación, estrés o daño celular; y los patrones de expresión génica, que proporcionan una visión global de cómo los teratógenos afectan la regulación de los genes implicados en el desarrollo (Pamies & Hartung, 2017). Estas evaluaciones detalladas no solo detectan la teratogénesis, sino que también ofrecen información crítica sobre los mecanismos celulares y moleculares subyacentes a la toxicidad del desarrollo. Además, en el marco de la toxicología del desarrollo, los modelos in vitro son herramientas críticas dentro del paradigma de las 3R (reducir, refinar, reemplazar) (Adler et al., 2011). Estos modelos contribuyen directamente a la reducción del número de animales necesarios para los estudios de teratogénesis, y en muchos casos, permiten el reemplazo completo de algunas pruebas in vivo, especialmente en las fases iniciales de cribado de compuestos. La capacidad de refinar los experimentos es también una ventaja crucial, ya que el mayor control sobre las condiciones experimentales minimiza la variabilidad intrínseca de los sistemas biológicos complejos y mejora la reproducibilidad de los resultados, lo que se traduce en datos más fiables y robustos.

Las ventajas adicionales de los modelos in vitro son sustanciales. El mayor control experimental sobre el microambiente celular (incluyendo la concentración de nutrientes, el nivel de oxígeno, la presencia de factores de crecimiento, la composición de la matriz extracelular, etc.) permite a los investigadores aislar y estudiar el impacto directo de un teratógeno sin la influencia de las complejas interacciones sistémicas presentes en los organismos completos. Esto simplifica el análisis causal y facilita la identificación de los eventos primarios que conducen a la teratogénesis. Los tiempos de respuesta más rápidos son otro beneficio significativo; a diferencia de los modelos animales que pueden requerir semanas o meses para completar un estudio, los cultivos celulares y de tejidos suelen tener ciclos de vida más cortos, lo que acelera el proceso de evaluación de compuestos y la identificación de riesgos. Esta rapidez es crucial en las primeras fases del

desarrollo de fármacos y en la evaluación de la seguridad de nuevos productos químicos, permitiendo decisiones más ágiles y eficientes. Finalmente, la posibilidad de integración con tecnologías de biología molecular y análisis computacional amplifica exponencialmente su potencial. Esto incluye el uso de técnicas de alto rendimiento (high-throughput screening) para evaluar miles de compuestos de manera eficiente y automatizada, lo que sería impensable con modelos animales. El análisis de secuenciación de ARN (RNA-seq) puede identificar cambios sutiles pero significativos en la expresión génica que son clave para comprender los mecanismos de acción de los teratógenos. Además, el modelado computacional y la bioinformática pueden utilizar los datos generados por los modelos in vitro para predecir la toxicidad, identificar redes de genes alteradas y optimizar aún más la experimentación, creando un ciclo virtuoso de descubrimiento y validación.

Tipos de modelos in vitro aplicados a teratogénesis

Cultivos de células madre pluripotentes

Las células madre pluripotentes representan una piedra angular en la investigación biomédica y la toxicología del desarrollo, ofreciendo una plataforma sin precedentes para el estudio de la teratogénesis. Este grupo incluye tanto las células madre embrionarias (ESC), derivadas de la masa celular interna de blastocistos, como las células madre pluripotentes inducidas (iPSC), que son células somáticas reprogramadas a un estado de pluripotencia. Ambas comparten la característica fundamental de su pluripotencia, es decir, la capacidad única de diferenciarse en cualquier tipo de célula de las tres capas germinales embrionarias: el ectodermo (que da origen a la piel y el sistema nervioso), el mesodermo (que forma los músculos, huesos, sangre y corazón) y el endodermo (que origina el sistema digestivo y respiratorio). Esta versatilidad intrínseca las convierte en sistemas experimentales invaluable para modelar y desentrañar los complejos procesos del desarrollo embrionario temprano.

Su utilidad en el estudio de la teratogénesis radica precisamente en esta capacidad de recapitular las primeras etapas del desarrollo, donde la sensibilidad a los agentes externos es máxima y las consecuencias de las interrupciones pueden ser devastadoras. Al exponer estas células pluripotentes o sus derivados a diversas sustancias químicas, es posible observar y cuantificar los efectos adversos en la diferenciación, la proliferación, la migración celular y la formación de estructuras tridimensionales. Estos sistemas permiten, por tanto, una evaluación detallada de cómo un compuesto puede interferir con los delicados programas genéticos y moleculares que orquestan la embriogénesis.

Según Pamies y Hartung (2017), los cultivos de células pluripotentes son excepcionalmente valiosos para identificar interferencias en rutas de señalización clave que son absolutamente fundamentales para la correcta formación de estructuras embrionarias. Entre estas rutas se encuentran la vía de señalización Wnt, crucial para la polaridad celular, la proliferación, la diferenciación y la formación de ejes corporales; la vía Notch, esencial para la determinación del destino celular, la diferenciación y la morfogénesis de órganos como el corazón y los vasos sanguíneos; y la vía Hedgehog, vital para la especificación de patrones, el crecimiento de las extremidades y el desarrollo del sistema nervioso central. La alteración de cualquiera de estas rutas, incluso de forma sutil, puede llevar a malformaciones congénitas graves. Los modelos basados en células pluripotentes permiten monitorear la activación o inhibición de estas vías de señalización en respuesta a la exposición a teratógenos, ofreciendo una visión mecanística profunda de cómo se producen los defectos del desarrollo. Esto va más allá de la mera detección de un efecto teratogénico, brindando la posibilidad de comprender *por qué* ocurre ese efecto.

Un avance revolucionario en este campo ha sido el desarrollo de las células madre pluripotentes inducidas (iPSC). A diferencia de las ESC, las iPSC pueden derivarse directamente de células somáticas de cualquier individuo, incluidos pacientes humanos.

Esta característica confiere una ventaja sin precedentes: la posibilidad de un enfoque de medicina personalizada en la evaluación de la teratogénesis (van der Zalm et al., 2020). Al utilizar iPSC derivadas de un paciente específico, los investigadores pueden evaluar la susceptibilidad individual a agentes teratógenos, considerando los factores genéticos específicos de esa persona. Esto es crucial porque la respuesta a un teratógeno puede variar drásticamente entre individuos debido a polimorfismos genéticos que afectan el metabolismo de los fármacos, la expresión de receptores o la eficiencia de las vías de reparación del ADN. Por ejemplo, se podrían derivar iPSC de una madre que ha estado expuesta a un agente sospechoso de teratogénesis y estudiar cómo sus células embrionarias reaccionan a ese agente, o analizar la predisposición de un individuo a desarrollar ciertas malformaciones cuando se expone a sustancias específicas. Esta capacidad de "enfermedad en una placa" (disease-in-a-dish) no solo permite una predicción más precisa de la teratogénesis en poblaciones humanas, sino que también abre la puerta a la identificación de subgrupos de individuos con mayor riesgo y al desarrollo de estrategias de prevención o intervención más dirigidas. La capacidad de recrear modelos de enfermedades humanas y estudiar la toxicidad del desarrollo en un contexto genético específico sin depender de modelos animales con diferencias metabólicas o genéticas inherentes es un cambio de juego para la toxicología predictiva.

Ensayos validados de embriotoxicidad específica

Los modelos in vitro para el estudio de la teratogénesis han evolucionado significativamente, ofreciendo herramientas más éticas, eficientes y detalladas que los métodos tradicionales basados en animales completos. Entre los más destacados se encuentran el Embryonic Stem Cell Test (EST), el Micromass Culture Test y el Whole Embryo Culture (WEC). Cada uno de estos ensayos aprovecha diferentes aspectos del desarrollo

embrionario para evaluar el potencial teratogénico de diversos compuestos, contribuyendo de manera complementaria a una comprensión integral de la embriotoxicidad.

- *Embryonic Stem Cell Test (EST): Un Estándar para la Evaluación de la Embriotoxicidad Temprana*

El Embryonic Stem Cell Test (EST), concebido y desarrollado inicialmente en Europa, se ha consolidado como una de las metodologías más reconocidas y aceptadas para la evaluación de la embriotoxicidad temprana. Su fundamento reside en la capacidad intrínseca de las células madre embrionarias (ESC) de ratón para diferenciarse espontáneamente y formar cardiomiocitos (células cardíacas) que muestran actividad contráctil en el cultivo. Esta diferenciación es un proceso altamente complejo y sensible, dependiente de la interacción precisa de múltiples vías de señalización y programas genéticos. La interferencia con cualquiera de estos pasos por parte de un agente externo se refleja en una alteración o inhibición de la formación de cardiomiocitos, sirviendo como un claro indicador de embriotoxicidad. El diseño del EST es robusto y se basa en la evaluación de dos parámetros cruciales: la diferenciación de ESC en cardiomiocitos y la citotoxicidad general del compuesto. Para este último, se utilizan dos líneas celulares: las propias ESC, que son células altamente proliferativas y, por lo tanto, muy sensibles a los efectos citotóxicos; y una línea celular de fibroblastos 3T3, que sirve como control para discriminar la citotoxicidad inespecífica de aquella que es específica del proceso de desarrollo (Piersma et al., 2017). Un compuesto es clasificado como embriotóxico si interfiere con la diferenciación de las ESC a concentraciones que no son citotóxicas para las células 3T3. El procedimiento estándar implica la exposición de las ESC a una serie de concentraciones del compuesto bajo investigación, seguido de la observación de la formación de cuerpos embrioides y, crucialmente, la aparición y

cuantificación de cardiomiocitos latientes. La reducción en el número, la frecuencia de latido o la calidad morfológica de estos cardiomiocitos, en combinación con los datos de citotoxicidad, permite clasificar un compuesto en categorías como no embriotóxico, débilmente embriotóxico o fuertemente embriotóxico. La trascendencia del EST radica en su aceptación regulatoria como método alternativo para la clasificación de compuestos según su potencial embriotóxico, lo que lo valida como una herramienta fiable y reproducible. Su formato permite el cribado de alto rendimiento (high-throughput screening), facilitando la rápida identificación de posibles teratógenos en las fases tempranas del desarrollo de fármacos o la evaluación de la seguridad de miles de sustancias químicas, lo que permite la eliminación temprana de candidatos con alto riesgo y una optimización de recursos significativa.

- *Micromass Culture Test: Un Foco en el Desarrollo Esquelético*

El Micromass Culture Test es un modelo in vitro particularmente valioso para desentrañar los efectos teratogénicos sobre el desarrollo musculoesquelético, una de las principales dianas de los teratógenos. Este ensayo se basa en la capacidad de cultivos de alta densidad de células mesenquimales para formar tejido cartilaginoso y, en menor medida, muscular. Estas células precursoras multipotentes se aíslan típicamente de los brotes de las extremidades (limb buds) de embriones de ratón o pollo, que son regiones de rápido crecimiento y diferenciación en el embrión temprano. Al sembrar estas células a una alta densidad en un pequeño volumen, se promueve su agregación y subsiguiente diferenciación en un patrón tridimensional que simula la condrogénesis (formación de cartílago) y, en menor medida, la miogénesis (formación de músculo esquelético).

El principio de este ensayo radica en la observación de alteraciones en la morfogénesis y la diferenciación de estas estructuras como un indicador directo de teratogenicidad (Adler et al., 2011). Tras la exposición a un compuesto de prueba, los investigadores evalúan parámetros como el número, tamaño y la organización de los nódulos de cartílago, que pueden ser visualizados mediante tinciones específicas como el azul de alcian, que marca los proteoglicanos de la matriz cartilaginosa. Los teratógenos que afectan el desarrollo esquelético pueden causar una reducción en la formación de nódulos, una alteración en su morfología, una inhibición de la diferenciación condrogénica, o un aumento de la citotoxicidad específica en estas células. Este modelo es especialmente sensible a compuestos que interfieren con vías de señalización cruciales para la formación de las extremidades y la segmentación esquelética, como la vía Sonic Hedgehog o factores de crecimiento como el TGF- β . Al centrarse en un tipo de tejido específico y en un proceso de diferenciación bien caracterizado, el Micromass Culture Test ofrece una visión mecanística detallada de cómo los teratógenos pueden inducir defectos óseos y cartilaginosos, siendo un complemento importante a los ensayos de cribado más generales.

- *Whole Embryo Culture (WEC): Una Ventana al Embrión en Desarrollo*

El Whole Embryo Culture (WEC) se distingue de los anteriores al ser un sistema que se clasifica como parcialmente ex vivo, lo que le confiere ventajas únicas. A diferencia de los cultivos celulares o de tejidos aislados, el WEC permite el cultivo de embriones de roedores completos (principalmente ratas o ratones) fuera del útero materno, en un medio nutritivo y bajo condiciones atmosféricas y de temperatura estrictamente controladas. Los embriones se explantan en etapas muy tempranas del desarrollo, típicamente durante el periodo de organogénesis

principal (por ejemplo, desde el día 8.5 de gestación en ratones o el día 9.5 en ratas), un momento crítico donde la mayoría de los órganos y sistemas se están formando.

Esta aproximación permite a los investigadores observar el efecto de los compuestos directamente sobre el embrión completo en un entorno que, si bien es artificial, mantiene las complejas interacciones entre diferentes tejidos y órganos que son esenciales para el desarrollo normal (Piersma et al., 2017). Los embriones pueden mantenerse viables y continuar su desarrollo *in vitro* durante un periodo significativo, generalmente entre 24 y 48 horas, lo que es suficiente para que se manifiesten muchos defectos inducidos por teratógenos. La principal fortaleza del WEC reside en las evaluaciones morfológicas detalladas que se pueden realizar. Los investigadores pueden detectar y cuantificar una amplia gama de malformaciones estructurales en la cabeza (como hidrocefalia o anencefalia), tronco (defectos en la pared corporal), extremidades (amelia, micromelia), corazón (defectos septales), y sistema nervioso central (alteraciones en el cierre del tubo neural). Además de las malformaciones macroscópicas, se evalúan parámetros como el crecimiento (longitud cráneo-caudal, número de somitas), el desarrollo de las vesículas cerebrales y la rotación normal del embrión. Si bien el WEC no puede replicar completamente las interacciones maternas (como el metabolismo hepático materno del compuesto o la función placentaria), su capacidad para observar el impacto global de un teratógeno en un organismo en desarrollo con sus interacciones tisulares intactas lo convierte en una herramienta invaluable para la confirmación de la teratogenicidad y el estudio de sus mecanismos globales. Representa un puente fundamental entre los ensayos celulares de alto rendimiento y los estudios *in vivo* completos, ofreciendo una visión integral que los modelos más simplificados no pueden proporcionar.

Sistemas organotípicos y modelos 3D

Los modelos tradicionales de cultivo celular en dos dimensiones (2D) han sido fundamentales en la investigación biomédica, pero a menudo carecen de la complejidad arquitectónica y funcional de los tejidos vivos. En contraste, los sistemas organotípicos y modelos 3D han surgido como una revolución, permitiendo una recreación mucho más fiel del microambiente fisiológico de los tejidos y órganos. Estos modelos tridimensionales facilitan un análisis significativamente más preciso de los efectos teratógenos, al capturar fenómenos complejos como la organización espacial de las células, las intrincadas interacciones célula-célula y la formación de gradientes morfogénicos (Pamies & Hartung, 2017). La capacidad de estos sistemas para mimetizar la complejidad *in vivo* abre nuevas avenidas para entender los mecanismos de la teratogénesis y evaluar la seguridad de compuestos con una predictibilidad sin precedentes.

La principal ventaja y la razón fundamental detrás de la creciente adopción de los modelos 3D radica en su habilidad para imitar la arquitectura nativa del tejido de una manera que los cultivos 2D simplemente no pueden. En un cultivo 2D, las células se adhieren y proliferan en una superficie plana, formando una monocapa que, aunque útil para estudios básicos de toxicidad o proliferación, distorsiona significativamente las interacciones naturales entre las células y con su matriz extracelular. En el entorno tridimensional, las células pueden establecer contactos en todas las direcciones, formar uniones intercelulares complejas (como uniones estrechas, uniones adherentes y desmosomas), polarizarse correctamente y desarrollar la intrincada arquitectura que caracteriza a los tejidos y órganos funcionales.

La importancia de esta fidelidad arquitectónica en el estudio de la teratogénesis es inmensa. Los procesos de desarrollo embrionario dependen críticamente de la organización espacial precisa de las células. La migración coordinada de poblaciones celulares específicas a destinos definidos, la diferenciación en ubicaciones espaciales correctas y la formación de

patrones complejos son eventos orquestados con una precisión asombrosa. Los teratógenos a menudo no solo causan muerte celular o citotoxicidad general, sino que pueden interferir sutilmente con la señalización espacial, alterar las rutas de migración celular o el posicionamiento tisular, lo que inevitablemente conduce a malformaciones estructurales y disfunciones. Los modelos 3D, al permitir esta auto-organización y estructuración, son intrínsecamente capaces de detectar estas interrupciones espaciales que serían invisibles en un cultivo 2D. Por ejemplo, un fármaco que interfiere con la migración de células de la cresta neural, crucial para la formación de estructuras faciales y cardíacas, se manifestaría con mayor claridad en un modelo 3D que reproduce esa migración que en una monocapa celular.

Además, las interacciones célula-célula son vitales para la inducción y el mantenimiento de la diferenciación celular, así como para la morfogénesis de órganos. Las células en un tejido 3D se comunican activamente a través de contactos directos y mediante la secreción de factores de señalización que operan a distancias cortas. Los teratógenos pueden dirigirse específicamente a moléculas de adhesión celular o a vías de señalización de contacto, y los modelos 3D pueden revelar estas interrupciones de manera más fisiológicamente relevante. Finalmente, la formación de gradientes morfogenéticos —gradientes de concentración de moléculas señalizadoras (morfógenos) que guían la diferenciación celular y la formación de patrones en el embrión en función de su concentración— es un principio fundamental del desarrollo. Un modelo 3D puede recrear o al menos permitir la observación de cómo un teratógeno distorsiona estos gradientes, alterando así el destino celular y, en última instancia, la formación de órganos. La difusión de estos morfógenos y su interacción con las células solo puede modelarse adecuadamente en un entorno 3D.

Ejemplos Emblemáticos de Modelos Organotípicos para Teratogénesis Órgano-Específica:

- Neuroesferas y Organoides Cerebrales para Evaluar Neurotoxicidad del Desarrollo:
El sistema nervioso central (SNC) es particularmente vulnerable a la teratogénesis debido a su prolongado y complejo desarrollo. Agentes como el alcohol (síndrome alcohólico fetal), ciertos anticonvulsivantes (defectos del tubo neural) o disruptores endocrinos pueden inducir una amplia gama de neurotoxicidad del desarrollo. Las neuroesferas, que son agregados esféricos simples de células madre neurales, representan un primer paso en la creación de un modelo 3D del cerebro, donde las células pueden diferenciarse en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos, y establecer algunas interacciones tridimensionales. Sin embargo, los organoides cerebrales son estructuras mucho más sofisticadas y complejas. Derivados de células madre pluripotentes (ESC o iPSC), estos organoides pueden recapitular aspectos fundamentales de la neurogénesis embrionaria, la gliogénesis, la migración neuronal radial y tangencial, y la formación de capas corticales similares a las observadas en el cerebro humano en desarrollo. Algunos modelos incluso muestran patrones de actividad electrofisiológica. Estos modelos permiten evaluar cómo los teratógenos afectan la proliferación de células madre neurales, la diferenciación neuronal, la migración (crucial para la formación de las circunvoluciones y capas corticales), la sinaptogénesis (formación de conexiones neuronales), la mielinización (formación de la vaina de mielina alrededor de los axones) y la integración de redes neuronales funcionales. Permiten identificar agentes que pueden conducir a trastornos del neurodesarrollo como la microcefalia, la anencefalia, los trastornos del espectro autista o los déficits cognitivos, observando alteraciones en el tamaño del organoide, la organización celular, la conectividad neuronal o la función eléctrica. Su relevancia es inestimable dada la creciente preocupación por la exposición a neurotóxicos ambientales y la necesidad de entender los orígenes del desarrollo de enfermedades neurológicas y psiquiátricas.

- Hepatoides para Estudiar Alteraciones Hepáticas Inducidas durante la Organogénesis: El hígado es un órgano vital con múltiples funciones metabólicas y de desintoxicación, y su desarrollo *in utero* es un proceso altamente coordinado. Los hepatoides son organoides hepáticos derivados de células madre pluripotentes o, en algunos casos, de células hepáticas primarias que se autoensamblan para formar estructuras tridimensionales que imitan la arquitectura lobulillar y la función del hígado fetal o neonatal. Estos modelos son invaluable para estudiar cómo los teratógenos pueden inducir alteraciones hepáticas durante la organogénesis, lo que podría resultar en malformaciones congénitas o disfunción hepática post-natal. Permiten evaluar la citotoxicidad específica del hepatocito, la colestasis inducida por fármacos (interrupción del flujo de bilis), la alteración de la biotransformación hepática (ya que expresan enzimas metabolizadoras de fármacos similares a las del hígado *in vivo*), el estrés oxidativo o la fibrosis. La capacidad de los hepatoides para realizar funciones metabólicas básicas, como la síntesis de albúmina o urea, los convierte en modelos predictivos muy potentes para la toxicidad hepática inducida por teratógenos, y para entender cómo los defectos del desarrollo hepático pueden influir en la susceptibilidad a enfermedades hepáticas en la vida adulta.
- Organ-on-a-Chip: Integrando la Fisiología con la Microfluídica para una Mimetización Avanzada: Una de las innovaciones más prometedoras y de mayor impacto en la mimetización fisiológica son los sistemas organ-on-a-chip. Estos dispositivos microfluídicos, del tamaño de una memoria USB, representan un paso evolutivo significativo al combinar cultivos 3D con tecnología microfluídica. Consisten en microcanales y cámaras fabricados con precisión que simulan no solo la arquitectura 3D de los tejidos, sino también el flujo dinámico de fluidos (como sangre, aire o linfa) que ocurre dentro de los órganos humanos. Esto permite un control riguroso de parámetros fisiológicos clave, como el flujo de nutrientes,

oxígeno, factores de crecimiento y moléculas señalizadoras, así como la aplicación de fuerzas mecánicas (como el estiramiento o las fuerzas de cizallamiento) que son esenciales para la función normal y el desarrollo de muchos tejidos (van der Zalm et al., 2020).

En el contexto de la teratogénesis, los sistemas organ-on-a-chip ofrecen oportunidades sin precedentes. Un "embrión-on-a-chip" o "placenta-on-a-chip" podría recrear la compleja barrera placentaria y la transferencia selectiva de sustancias del torrente sanguíneo materno al embrión, un factor crítico en la exposición a teratógenos. Esto permitiría evaluar cómo los compuestos son metabolizados por la placenta y en qué medida llegan al embrión, un aspecto que los modelos 3D simples no pueden abordar. Un "corazón-on-a-chip" o "pulmón-on-a-chip" en desarrollo, cultivado en un sistema microfluídico, permitiría estudiar directamente cómo los teratógenos afectan la formación y función de estos órganos bajo condiciones dinámicas que se asemejan al entorno fetal. Por ejemplo, el "corazón-on-a-chip" podría simular la carga mecánica y el ritmo cardíaco, mientras que el "pulmón-on-a-chip" podría recrear la interfaz aire-líquido y el estiramiento mecánico de los alvéolos. La microfluídica no solo asegura un suministro constante y homogéneo de nutrientes y la eficiente eliminación de residuos metabólicos, sino que también puede imitar el flujo sanguíneo y el estrés mecánico que experimentan los tejidos en desarrollo, los cuales son cruciales para su maduración, diferenciación y función óptima. Estos sistemas permiten un control sin precedentes sobre el microambiente celular, lo que conduce a resultados más fisiológicamente relevantes y, en última instancia, a una mayor predictibilidad de la teratogenicidad en humanos. Además, la posibilidad de integrar múltiples "órganos en un chip" para crear un "cuerpo-en-un-chip" abre la puerta a estudiar las interacciones sistémicas

de los teratógenos, incluyendo su absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME), y sus efectos sobre múltiples órganos diana de manera interconectada, lo que representa la próxima frontera en la evaluación de la toxicología del desarrollo.

Causas de la teratogénesis y su evaluación mediante modelos in vitro

La teratogénesis no es un fenómeno aleatorio, sino el resultado de la interacción de agentes externos (teratógenos) con procesos biológicos finamente orquestados durante el desarrollo embrionario y fetal. Entender las causas y mecanismos subyacentes de estas interrupciones es fundamental para la toxicología del desarrollo, permitiendo no solo la identificación de sustancias de riesgo, sino también el diseño de estrategias preventivas y terapéuticas más efectivas. Los modelos in vitro se han convertido en herramientas indispensables para desentrañar los mecanismos biológicos por los cuales los teratógenos ejercen sus efectos, ofreciendo una visión detallada de las vías celulares y moleculares que son afectadas. Estos modelos permiten ir más allá de la mera detección de malformaciones, proporcionando información crucial sobre *cómo* y *por qué* ocurre la teratogénesis a nivel molecular y celular.

Mecanismos de Acción de los Teratógenos y su Evaluación Detallada In Vitro

Los teratógenos pueden actuar a través de diversos mecanismos, a menudo interconectados, que alteran el delicado equilibrio del desarrollo. La sofisticación de los modelos in vitro actuales permite diseccionar estas complejas interacciones con un nivel de detalle sin precedentes:

- *Alteración de Rutas de Señalización Críticas para el Desarrollo Embrionario:*

El desarrollo embrionario es un programa genético y molecular altamente regulado, donde las rutas de señalización célula-célula desempeñan un papel central en la especificación del destino celular, la proliferación, la migración, la diferenciación tisular y la

morfogénesis. La disrupción de estas vías, incluso de forma sutil, puede tener consecuencias devastadoras para la formación de órganos y sistemas.

- La vía Hedgehog es esencial para el establecimiento de patrones en el eje anteroposterior de las extremidades, el desarrollo del sistema nervioso central (especialmente la diferenciación ventral de la médula espinal y el cerebro), la formación del intestino y la diferenciación de muchos otros órganos. Una alteración en la actividad de la proteína Sonic Hedgehog (SHH), por ejemplo, puede conducir a malformaciones craneofaciales severas como la holoprosencefalia o anomalías graves de las extremidades.
- La vía Wnt/ β -catenina es un regulador maestro de la polaridad celular, el desarrollo de las crestas neurales (precursoras de una variedad de tejidos), la formación de ejes corporales, la organogénesis de sistemas clave como el riñón, el intestino y el corazón, y la proliferación de células madre. Una activación o inhibición aberrante de esta vía por teratógenos puede resultar en una amplia gama de defectos, desde alteraciones esqueléticas hasta malformaciones cardíacas.
- La vía TGF- β (Factor de Crecimiento Transformante beta) es un mediador pleiotrópico que regula la proliferación, diferenciación celular, apoptosis, inmunidad y la formación de matriz extracelular. Es crucial para el desarrollo cardíaco (formación del tabique), renal, pulmonar y esquelético, así como para los procesos de epitelio-mesénquima.
- Los cultivos pluripotentes (ESC e iPSC) y los organoides son herramientas excepcionales para el análisis de estas vías. Permiten a los investigadores exponer células o estructuras 3D a teratógenos y monitorear con precisión los cambios en la expresión de genes diana de estas vías (mediante técnicas de biología molecular

como RT-qPCR, secuenciación de ARN de próxima generación (RNA-seq) o análisis de transcriptómica de célula única), la localización subcelular de proteínas clave (mediante microscopía de alta resolución e inmunofluorescencia, por ejemplo, la translocación de β -catenina al núcleo), o la actividad de reporteros de señalización (mediante la integración de construcciones genéticas que expresan proteínas fluorescentes bajo el control de promotores sensibles a estas vías). Esto permite identificar compuestos que actúan como agonistas (activadores) o antagonistas (inhibidores) de estas vías cruciales, incluso a concentraciones que no causan citotoxicidad general, pero que son suficientes para desregular procesos de desarrollo altamente sensibles (Pamies & Hartung, 2017). Por ejemplo, un organoide cerebral expuesto a un teratógeno que altera la vía Wnt podría mostrar no solo una reducción en el tamaño cortical, sino también una organización aberrante de sus capas o una diferenciación defectuosa de tipos neuronales específicos, revelando la base mecánica de la neuroteratogénesis.

- Estrés Oxidativo como Factor Teratogénico:

Este mecanismo implica un desequilibrio crítico entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad del sistema biológico para detoxificarlas o reparar el daño resultante. Las ROS son moléculas altamente reactivas (como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo) que pueden inducir daño oxidativo a componentes celulares esenciales como el ADN, las proteínas (con pérdida de función enzimática o estructural) y los lípidos (llevando a la peroxidación lipídica y daño de membrana), interrumpiendo procesos metabólicos y de señalización cruciales. El desarrollo embrionario es particularmente vulnerable al estrés oxidativo debido a su alta tasa metabólica, la rápida proliferación celular, y en algunos casos, una menor capacidad antioxidante en comparación con los tejidos adultos.

- Los cultivos celulares (células embrionarias, líneas celulares diferenciadas o incluso organoides) son plataformas excelentes para medir los niveles de ROS intracelulares utilizando sondas fluorescentes sensibles (como 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato (DCFH-DA) o CellROX Green), que emiten fluorescencia al reaccionar con las ROS. También se pueden cuantificar los productos del daño oxidativo, como la 8-hidroxiguanosina (8-OHdG) para el daño del ADN, o el malondialdehído (MDA) para la peroxidación lipídica, mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) o ensayos ELISA. Además, se puede evaluar la actividad o expresión de enzimas antioxidantes clave como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y el glutatión peroxidasa (GPx). Un aumento en los niveles de ROS, una acumulación de productos de daño oxidativo, o una disminución en la capacidad antioxidante tras la exposición a un teratógeno, es un indicativo robusto de que el estrés oxidativo es un mecanismo clave de su acción (Piersma et al., 2017). Comprender esta vía es fundamental, ya que muchos teratógenos ambientales (como ciertos pesticidas) y farmacéuticos (como la talidomida o algunos anticonvulsivantes) ejercen parte de sus efectos a través de la generación de ROS.

- *Epigenética: Un Nivel Adicional de Regulación Génica Interrumpido por Teratógenos:*

Más allá de las mutaciones directas en la secuencia del ADN, los cambios epigenéticos son modificaciones heredables en la expresión génica que no implican alteraciones en la secuencia de nucleótidos del ADN en sí, sino en cómo se "lee" ese ADN. Estos mecanismos incluyen la metilación del ADN (adición de grupos metilo a las bases de citosina, especialmente en islas CpG, lo que generalmente se asocia con la represión de la expresión génica) y las modificaciones de histonas (alteraciones covalentes como acetilación, metilación o fosforilación en las histonas, las proteínas alrededor de las

cuales se enrolla el ADN para formar la cromatina, que pueden hacer que la cromatina sea más abierta y accesible para la transcripción, o más compacta y reprimida). El epigenoma es extraordinariamente dinámico y juega un papel maestro en la regulación de los programas de desarrollo, y su disrupción por teratógenos puede tener efectos a largo plazo en la salud del individuo, incluso manifestándose en la vida adulta como susceptibilidad a enfermedades.

- Los cultivos celulares ofrecen un sistema excepcionalmente accesible y controlable para evaluar estos cambios sutiles pero profundos en el epigenoma. Técnicas avanzadas son cruciales aquí: la bisulfito-secuenciación (BS-seq o Whole-Genome Bisulfite Sequencing, WGBS) permite mapear el patrón de metilación del ADN a lo largo de todo el genoma con una resolución de base única, revelando cambios en la metilación que pueden silenciar o activar genes cruciales para el desarrollo. La inmunoprecipitación de cromatina seguida de secuenciación (ChIP-seq) se utiliza para identificar dónde se unen proteínas específicas (como factores de transcripción, polimerasas) o qué modificaciones de histonas están presentes en diferentes regiones del genoma, lo que indica el estado de la cromatina (eucromatina abierta/activa o heterocromatina cerrada/reprimida) (Hartung, 2009). La ATAC-seq (Assay for Transposase-Accessible Chromatin using sequencing) complementa esto al identificar regiones de cromatina abierta que son accesibles a factores de transcripción. Al comparar los patrones epigenéticos de células o tejidos en desarrollo expuestos a teratógenos con los de controles no expuestos, se pueden identificar alteraciones en genes clave del desarrollo, proporcionando una comprensión profunda de cómo los teratógenos "reprograman" la expresión génica fetal sin cambiar la secuencia de ADN. Estos cambios epigenéticos pueden explicar los efectos de la teratogénesis que no son

inmediatamente visibles como malformaciones estructurales, sino que se manifiestan como alteraciones funcionales, conductuales o predisposiciones a enfermedades crónicas más tarde en la vida (como el "origen del desarrollo de la salud y la enfermedad", DOHaD).

- *Apoptosis y Necrosis: Muerte Celular Programada y Accidental como Mecanismo Teratogénico:*

La muerte celular es un proceso fisiológico esencial y altamente regulado durante el desarrollo embrionario para la eliminación de estructuras transitorias (ej. la membrana interdigital para formar los dedos), la formación de cavidades (ej. en el desarrollo cardíaco o intestinal) y la escultura precisa de órganos. Sin embargo, una inducción excesiva o inadecuada de la muerte celular (ya sea apoptosis o necrosis) por parte de un teratógeno puede resultar en una pérdida masiva de células, hipoplasia (desarrollo incompleto de un órgano) o incluso la ausencia de estructuras, llevando a malformaciones.

- La apoptosis es una forma de muerte celular programada y controlada, caracterizada por una serie de eventos bioquímicos y morfológicos (ej. condensación de la cromatina, encogimiento celular, fragmentación del ADN en escaleras de nucleosomas, formación de cuerpos apoptóticos que son fagocitados sin inducir inflamación). La necrosis es una forma de muerte celular no programada y catastrófica, generalmente resultado de un daño celular grave, que implica la hinchazón celular, lisis de la membrana plasmática y liberación del contenido celular, lo que a menudo desencadena una respuesta inflamatoria.
- Los ensayos de viabilidad celular son herramientas estándar en los modelos in vitro para detectar y cuantificar la muerte celular temprana. El ensayo MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro) es un método colorimétrico que mide la actividad metabólica de las enzimas mitocondriales en células vivas. Otros ensayos como WST-1, AlamarBlue o el ensayo de la lactato deshidrogenasa (LDH)

también son ampliamente utilizados. La citometría de flujo, en combinación con marcadores fluorescentes específicos, permite una cuantificación más precisa y discriminatoria de las poblaciones celulares. Por ejemplo, el yoduro de propidio (PI) tiñe el ADN de células con membranas celulares comprometidas (células necróticas o en etapas tardías de apoptosis), mientras que la anexina V (que se une a la fosfatidilserina expuesta en la superficie celular) marca las células en etapas tempranas de apoptosis. La detección de un aumento significativo en la apoptosis o necrosis en células embrionarias o en desarrollo, tras la exposición a un compuesto y en un momento crítico del desarrollo, es un fuerte indicio de su potencial teratogénico, especialmente si la muerte celular se produce en poblaciones celulares específicas o en momentos que se correlacionan con malformaciones conocidas (ej., la inducción de apoptosis en el ápice del brote de la extremidad por la talidomida).

Consecuencias clínicas asociadas a la teratogénesis

Defectos Congénitos Estructurales: Manifestaciones Visibles al Nacimiento

La categoría más reconocida de las consecuencias de la teratogénesis son los defectos congénitos estructurales. Estos son anomalías físicas o morfológicas que son visibles y diagnosticables, a menudo, al momento del nacimiento o poco después. Representan fallos en los procesos de morfogénesis, es decir, la formación adecuada de tejidos y órganos durante el desarrollo embrionario.

- **Defectos del Tubo Neural (DTN):** Constituyen una de las malformaciones congénitas más graves y son un claro ejemplo de las consecuencias de la teratogénesis. Incluyen la espina bífida, donde la columna vertebral no se cierra completamente, dejando la médula espinal expuesta, lo que puede llevar a parálisis, problemas de control de esfínteres y hidrocefalia.

La anencefalia es una condición aún más severa, donde una gran parte del cerebro y el cráneo no se desarrollan, resultando incompatible con la vida. La formación del tubo neural es un proceso delicado que ocurre muy temprano en el embarazo (alrededor de las 3-4 semanas de gestación), y es susceptible a teratógenos como ciertos anticonvulsivantes, deficiencias de folato y, potencialmente, la exposición a algunos químicos ambientales.

- **Malformaciones Cardíacas Congénitas:** Son los defectos congénitos más comunes, afectando la estructura o función del corazón. Pueden variar desde condiciones relativamente leves (como un pequeño foramen oval persistente) hasta anomalías complejas que requieren múltiples cirugías (como la transposición de grandes arterias, tetralogía de Fallot, o defectos del septo ventricular/auricular). El desarrollo del corazón es un proceso extremadamente complejo que involucra la migración celular precisa, la proliferación y la señalización. La exposición a ciertos teratógenos como el alcohol, algunos fármacos para el acné (isotretinoína) o el litio durante períodos críticos puede interferir con estos procesos, llevando a defectos cardíacos que pueden comprometer seriamente la salud y la vida del neonato.
- **Agenesia o Hipoplasia de Órganos (Riñones, Extremidades):** La teratogénesis puede resultar en la agenesia (ausencia completa) o hipoplasia (desarrollo incompleto o subdesarrollado) de órganos o estructuras. Por ejemplo, la agenesia renal bilateral (ausencia de ambos riñones) es una condición letal, mientras que la hipoplasia renal puede llevar a insuficiencia renal a largo plazo. La famosa tragedia de la talidomida en la década de 1950 y 1960 es el ejemplo más notorio de defectos en las extremidades (focomelia o amelia, es decir, desarrollo anormal o ausencia total de las extremidades), una manifestación devastadora de teratogénesis que resaltó la urgencia de una evaluación rigurosa de los fármacos. Estos defectos estructurales son a menudo resultado de la

interrupción de la proliferación celular, la migración o la diferenciación en etapas clave de la organogénesis.

Según Piersma et al. (2017), se estima que entre el 3% y el 5% de los nacimientos vivos presentan algún tipo de defecto congénito estructural. Si bien no todos son atribuibles a exposiciones teratogénicas (factores genéticos o causas desconocidas también contribuyen), una proporción significativa de estos defectos tiene su origen en la exposición a agentes ambientales, farmacéuticos o estilos de vida maternos durante el embarazo. Esto subraya la magnitud del problema de salud pública que representa la teratogénesis.

Alteraciones Funcionales y Metabólicas: Consecuencias Ocultas y a Largo Plazo

A diferencia de los defectos estructurales, algunas consecuencias teratogénicas son menos evidentes de forma inmediata al nacimiento y se manifiestan más tardíamente, durante la infancia, la adolescencia o incluso la vida adulta. Estas son a menudo el resultado de disrupciones más sutiles en el desarrollo neurobiológico, endocrino o metabólico, que no impiden la formación básica del órgano, pero sí su funcionamiento óptimo.

- **Déficit Cognitivo:** La exposición prenatal a ciertos teratógenos puede no causar malformaciones cerebrales obvias, pero sí afectar el desarrollo neuronal, la formación de sinapsis o la conectividad neuronal, lo que se traduce en déficit cognitivo de diversa severidad. Esto puede incluir problemas de aprendizaje, dificultades de atención (como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad, TDAH), disminución del coeficiente intelectual (CI) o trastornos del espectro autista. Ejemplos clásicos incluyen la exposición prenatal al alcohol (Síndrome de Alcoholismo Fetal), plomo, metilmercurio y ciertos pesticidas. Estos efectos pueden ser sutiles y solo diagnosticarse cuando el niño alcanza hitos del desarrollo o ingresa a la escuela.

- **Alteraciones Endocrinas:** El sistema endocrino, responsable de la producción y regulación hormonal, es extremadamente sensible a las exposiciones prenatales. Los disruptores endocrinos ambientales (EDCs, por sus siglas en inglés), como el bisfenol A (BPA) o los ftalatos, pueden alterar la diferenciación de las gónadas, la función tiroidea o el desarrollo de las glándulas suprarrenales. Las consecuencias pueden incluir pubertad precoz o tardía, infertilidad en la vida adulta, o disfunción tiroidea que afecta el metabolismo y el neurodesarrollo. Estas alteraciones pueden no ser detectables hasta que el individuo alcanza la pubertad o intenta reproducirse.
- **Propensión a Enfermedades Metabólicas, como Diabetes de Origen Fetal:** La hipótesis de la "programación fetal" o "origen del desarrollo de la salud y la enfermedad" (DOHaD) postula que las exposiciones adversas durante periodos críticos del desarrollo prenatal pueden "programar" al individuo para una mayor susceptibilidad a enfermedades crónicas en la vida adulta. Esto incluye una mayor propensión a la diabetes tipo 2, obesidad, hipertensión y enfermedades cardiovasculares. Por ejemplo, una nutrición materna deficiente o la exposición a ciertos compuestos que alteran el desarrollo del páncreas o la sensibilidad a la insulina durante la vida fetal pueden resultar en un metabolismo de la glucosa desregulado en la edad adulta (Adler et al., 2011). Estos efectos son a menudo resultado de modificaciones epigenéticas inducidas por los teratógenos que alteran la expresión génica a largo plazo en órganos clave como el hígado, el páncreas o el tejido adiposo.

Diagnóstico y evaluación molecular mediante modelos in vitro

La integración de modelos in vitro con tecnologías ómicas ha mejorado significativamente la capacidad de diagnóstico temprano. Las tecnologías ómicas (genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica) proporcionan una visión global y detallada de la biología celular y molecular, permitiendo identificar biomarcadores y vías alteradas por la

exposición a teratógenos. Cuando se combinan con modelos in vitro, que mimetizan el desarrollo embrionario, se crea una plataforma poderosa para la toxicología del desarrollo:

- **Transcriptómica (RNA-seq):** permite una evaluación exhaustiva y cuantitativa de todos los ARN mensajeros (ARNm) presentes en una célula o tejido en un momento dado. Este "instantánea" de la expresión génica es invaluable porque la teratogénesis es, en esencia, una interrupción de los programas genéticos temporales y espaciales que dirigen el desarrollo. Al exponer células madre pluripotentes, organoides o micromass cultures a un teratógeno, y luego analizar su transcriptoma mediante RNA-seq, podemos identificar cambios en la expresión génica que revelan patrones de diferenciación o estrés celular anómalos (Pamies & Hartung, 2017).

Por ejemplo, una disminución en la expresión de genes clave para la condrogénesis en un Micromass Culture Test podría indicar un efecto teratogénico sobre el desarrollo del cartílago. En organoides cerebrales, la alteración en la expresión de genes asociados con la neurogénesis, la migración neuronal o la formación de sinapsis sería un fuerte indicador de neurotoxicidad del desarrollo. Además, el RNA-seq puede identificar la activación de vías de respuesta al estrés (como la respuesta al estrés oxidativo o el plegamiento incorrecto de proteínas), incluso a dosis bajas del teratógeno, mucho antes de que se observe un efecto citotóxico. La transcriptómica de célula única (single-cell RNA-seq) lleva esto un paso más allá, permitiendo identificar subpoblaciones celulares que son particularmente vulnerables o que exhiben respuestas transcripcionales únicas al teratógeno, ofreciendo una resolución sin precedentes de la heterogeneidad celular en el desarrollo y la toxicidad.

- **Proteómica:** es el estudio a gran escala de las proteínas, que son las principales moléculas funcionales de las células y las encargadas de ejecutar los programas genéticos. Mientras que la transcriptómica nos dice qué genes se están "transcribiendo", la proteómica nos indica qué proteínas se están "expresando" y en qué cantidad, lo que es a menudo una mejor correlación con la actividad biológica real. Esta tecnología se utiliza para evaluar la presencia, abundancia y modificaciones post-traduccionales de proteínas clave durante la diferenciación celular y en respuesta a la exposición a teratógenos (Pamies & Hartung, 2017).

Mediante técnicas como la espectrometría de masas de alto rendimiento (LC-MS/MS), es posible identificar cambios en el proteoma de células o tejidos in vitro expuestos a teratógenos. Por ejemplo, la disminución de proteínas estructurales esenciales en un organoide cardíaco podría indicar una interrupción en la cardiogénesis. Los teratógenos pueden afectar la estabilidad, plegamiento o modificación de proteínas (como la fosforilación o la ubiquitinación), alterando su función y contribuyendo a los defectos del desarrollo. La proteómica puede revelar biomarcadores proteicos de exposición o efecto teratogénico, ofreciendo una visión directa de cómo la maquinaria celular es afectada y complementando los hallazgos transcriptómicos, ya que los niveles de ARNm no siempre se correlacionan directamente con los niveles de proteína.

- **Metabolómica:** es el estudio a gran escala de los metabolitos, que son los productos finales de los procesos celulares. Representa un "instantánea" del estado fisiológico de una célula, tejido u organismo. Al analizar el perfil de metabolitos en modelos in vitro expuestos a teratógenos, la metabolómica permite detectar alteraciones en rutas metabólicas críticas, lo que puede ser un indicador muy sensible de toxicidad temprana. Esto incluye cambios en la biosíntesis de nucleótidos, esenciales para la replicación del ADN y la proliferación celular; la síntesis de ácidos grasos esenciales, cruciales para la

formación de membranas celulares y la señalización; o el metabolismo de carbohidratos y aminoácidos (Pamies & Hartung, 2017).

Por ejemplo, la alteración en el metabolismo del folato (vitamina B9) es un mecanismo conocido de teratogénesis (asociado a defectos del tubo neural). La metabolómica puede identificar cambios en los niveles de folato y sus metabolitos intermedios en células embrionarias expuestas a un teratógeno. Del mismo modo, la detección de acumulaciones de metabolitos tóxicos o la depleción de metabolitos protectores puede señalar un mecanismo teratogénico. Esta tecnología es particularmente útil para identificar biomarcadores de exposición que reflejan la actividad bioquímica alterada, proporcionando una visión funcional de la perturbación del desarrollo.

Aplicaciones terapéuticas y regulatorias actuales

Los modelos in vitro se han convertido en herramientas indispensables tanto para la industria farmacéutica como para organismos reguladores:

- **Evaluación de seguridad farmacológica:** En etapas preclínicas, los fármacos se someten a pruebas de embriotoxicidad mediante EST y otros ensayos in vitro antes de iniciar ensayos clínicos (Piersma et al., 2017).
- **Industria cosmética:** Desde 2013, la Unión Europea prohíbe la comercialización de cosméticos testados en animales, impulsando el uso de modelos alternativos (Adler et al., 2011).
- **Productos químicos industriales:** La legislación REACH exige evaluar riesgos de compuestos mediante métodos alternativos siempre que sea posible.

Aplicaciones terapéuticas futuras

- **Medicina personalizada:** iPSC derivadas de pacientes permiten modelar susceptibilidades individuales a teratógenos.
- **Desarrollo de nuevos biomarcadores:** Basados en perfiles moleculares obtenidos de organoides humanos.
- **Avances en biología computacional:** Integración de modelos in silico con datos obtenidos in vitro para simulaciones más completas (van der Zalm et al., 2020).

CONCLUSIÓN

El desarrollo de modelos in vitro para el estudio de la teratogénesis representa una evolución fundamental dentro de la toxicología del desarrollo, marcando un cambio de paradigma hacia enfoques más éticos, eficientes y científicamente rigurosos. Estos modelos han transformado la forma en que investigamos los agentes con potencial teratogénico, ofreciendo una alternativa viable a los estudios tradicionales en animales.

La espina dorsal de esta evolución la constituyen herramientas sofisticadas como los cultivos celulares pluripotentes (tanto células madre embrionarias o ESC, como células madre pluripotentes inducidas o iPSC), que poseen la capacidad única de diferenciarse en cualquier tipo celular del organismo, permitiendo modelar las primeras etapas del desarrollo embrionario. A esto se suman ensayos validados y estandarizados, como el Embryonic Stem Cell Test (EST), que evalúa la diferenciación cardíaca y la citotoxicidad, siendo aceptado internacionalmente para la clasificación de embriotóxicos. Complementando estos, los modelos organotípicos tridimensionales, que incluyen los organoides (estructuras auto-organizadas que recapitulan la arquitectura y función de órganos específicos, como organoides cerebrales o hepáticos) y los avanzados sistemas organ-on-a-chip (que combinan cultivos 3D con microfluídica para simular microambientes fisiológicos dinámicos), proporcionan un nivel de detalle y relevancia biológica sin precedentes. Gracias a estos avances, es posible evaluar de manera más ética (reduciendo drásticamente el uso de animales), eficiente (con mayor rendimiento y menor costo) y científicamente sólida el potencial teratogénico de una vasta gama de compuestos químicos, fármacos e incluso cosméticos, disminuyendo progresivamente la dependencia de complejos y costosos modelos animales (Adler et al., 2011; Pamies & Hartung, 2017).

Estos modelos in vitro no se limitan a la mera identificación de un efecto teratogénico; van mucho más allá al permitir la detección de mecanismos clave asociados a la teratogénesis a nivel

molecular y celular. Esto incluye la identificación de alteraciones en rutas de señalización críticas (como Hedgehog, Wnt/ β -catenina y TGF- β), que son fundamentales para la correcta formación de tejidos y órganos. También posibilitan la detección de estrés oxidativo descontrolado, que puede dañar componentes celulares vitales; la identificación de cambios epigenéticos (como patrones de metilación del ADN o modificaciones de histonas) que alteran la expresión génica sin cambiar la secuencia de ADN y pueden tener consecuencias a largo plazo; la disrupción de la diferenciación celular en etapas cruciales del desarrollo; y la inducción de apoptosis (muerte celular programada) o necrosis excesiva o inapropiada. Al desentrañar estos mecanismos, los modelos in vitro contribuyen de manera crucial a predecir no solo defectos estructurales (como malformaciones cardíacas o del tubo neural), sino también alteraciones funcionales más sutiles en el desarrollo humano (como déficits cognitivos o predisposición a enfermedades metabólicas), que pueden manifestarse mucho después del nacimiento (Piersma et al., 2017).

Además, la convergencia con la era digital ha potenciado aún más estos modelos. Se están integrando activamente tecnologías ómicas (como la transcriptómica con RNA-seq, la proteómica y la metabolómica) para obtener perfiles moleculares exhaustivos de las células y tejidos expuestos a teratógenos. Esta avalancha de datos biológicos complejos está siendo gestionada y analizada con la ayuda de la inteligencia artificial (IA) y el aprendizaje automático (machine learning), ampliando significativamente el alcance y la precisión de los diagnósticos moleculares relacionados con el potencial teratógeno de nuevas sustancias, permitiendo identificar patrones predictivos con mayor exactitud y velocidad (Hartung, 2009).

Importancia en la Práctica Médica y Salud Pública: Protegiendo el Futuro

La incorporación y validación de modelos in vitro en la evaluación de la teratogenicidad tiene un impacto directo y creciente en la práctica médica y en la salud pública, con implicaciones profundas para la protección de la población y el avance de la medicina.

Desde el punto de vista de la farmacología y la industria farmacéutica, esta evolución permite un diseño y aprobación de medicamentos más seguros. Al cribar y caracterizar el potencial teratogénico de nuevos candidatos a fármacos en etapas muy tempranas del desarrollo, se minimizan drásticamente los riesgos de que una sustancia dañina llegue al mercado, protegiendo así el desarrollo fetal durante el embarazo. Esto se traduce en menos tragedias como la de la talidomida y en una mayor confianza en la seguridad de los tratamientos médicos.

La detección temprana de efectos adversos mediante estos modelos in vitro es una herramienta preventiva de inmenso valor. Permite la identificación y, por ende, la prevención de defectos congénitos, que globalmente afectan entre un 3% y un 5% de los nacimientos vivos (Piersma et al., 2017). La prevención de estas condiciones tiene importantes consecuencias clínicas, sociales y económicas. Clínicamente, reduce la morbilidad y mortalidad infantil, y mejora la calidad de vida de los individuos afectados. Socialmente, disminuye la carga para las familias y los sistemas de apoyo. Económicamente, reduce los enormes costos asociados con el tratamiento a largo plazo de los defectos congénitos y la atención especializada.

Paralelamente, se fortalece la ética médica y científica al promover métodos que reducen el uso de animales de experimentación, en línea con las regulaciones internacionales y los principios de las 3R (Reducir, Refinar, Reemplazar) de la bioética (Adler et al., 2011). Esto no solo aborda preocupaciones sobre el bienestar animal, sino que también fomenta una investigación más humanitaria y sostenible.

Un aspecto revolucionario es la aplicación de estos modelos en el ámbito de la medicina personalizada. La capacidad de derivar células madre pluripotentes inducidas (iPSC) específicas de pacientes humanos abre la posibilidad única de evaluar la susceptibilidad individual a agentes teratogénos. Esto significa que se puede estudiar cómo las variaciones genéticas de un paciente particular influyen en su respuesta a un teratógeno, favoreciendo el desarrollo de estrategias

preventivas adaptadas a cada paciente. Este enfoque de "medicina de precisión del siglo XXI" es esencial para optimizar la seguridad de los tratamientos y las exposiciones en poblaciones vulnerables o con predisposición genética, moviéndonos hacia una prevención más proactiva y específica (Pamies & Hartung, 2017).

Futuras Líneas de Investigación y Avances Esperados: Hacia la Predicción Completa

El campo de los modelos in vitro para teratogénesis está en constante evolución, y se anticipan diversas líneas de avance que prometen revolucionar aún más nuestra capacidad predictiva y comprensiva:

- **Integración de Tecnologías Multi-Ómicas:** El futuro reside en la combinación sinérgica de la transcriptómica, proteómica, metabolómica y epigenómica en un único estudio. Esta integración permitirá construir modelos predictivos más completos y robustos, ofreciendo una visión holística de las perturbaciones biológicas. Al correlacionar cambios en el ADN, ARN, proteínas y metabolitos, se podrá desentrañar con mayor precisión las redes moleculares alteradas por un teratógeno, desde la causa inicial hasta las consecuencias funcionales (Hartung, 2009).
- **Organoides Humanizados y Chips Multicelulares Complejos:** Se espera un desarrollo continuo hacia la creación de sistemas organ-on-a-chip que integren no solo un órgano, sino múltiples tipos de tejidos o incluso órganos conectados entre sí. Esto permitiría simular de forma aún más realista la complejidad del entorno embrionario humano y las interacciones sistémicas que ocurren in vivo, como el metabolismo de un compuesto en el hígado y su posterior efecto en el cerebro o el corazón del embrión. La creación de "cuerpos en un chip" que repliquen sistemas fisiológicos interconectados (ej., hígado-riñón-cerebro) es una meta ambiciosa pero alcanzable (van der Zalm et al., 2020).

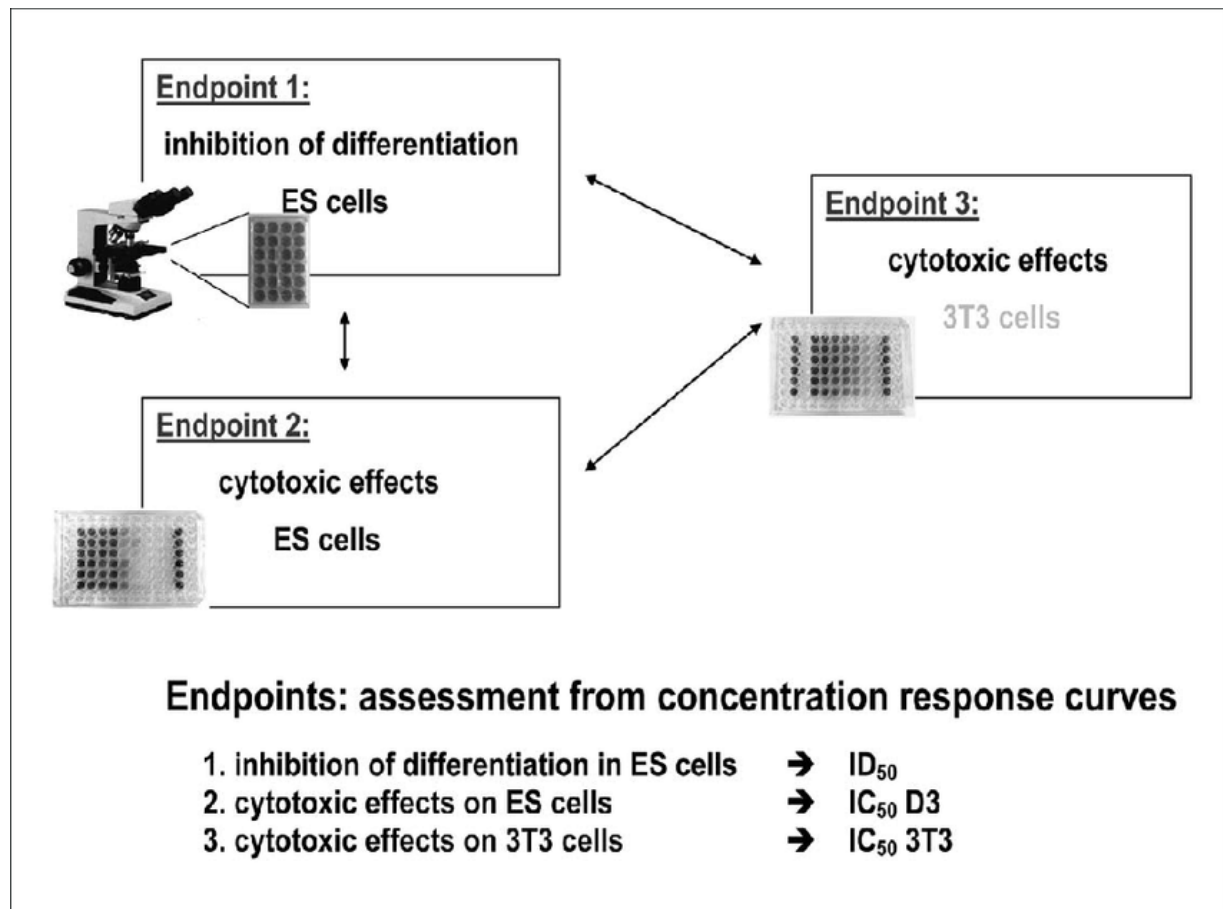
- **Aplicaciones Avanzadas de Inteligencia Artificial (IA):** La IA y el machine learning serán aún más centrales. El uso de algoritmos de aprendizaje profundo facilitará el análisis de los volúmenes masivos de datos generados por los modelos in vitro y las tecnologías ómicas. La IA podrá identificar patrones predictivos de teratogenicidad con una exactitud y velocidad sin precedentes, incluso descubriendo biomarcadores o mecanismos novedosos que no serían evidentes para los investigadores humanos. Esto acelerará exponencialmente el cribado y la clasificación de sustancias, y contribuirá al diseño in silico de moléculas más seguras (Pamies & Hartung, 2017).
- **Desarrollo de Guías Regulatorias Internacionales Armonizadas:** A pesar de los avances, persiste la necesidad crítica de armonizar los criterios y validaciones para que los modelos in vitro sean reconocidos de forma universal como estándar en las evaluaciones de seguridad farmacológica, cosmética e industrial. La colaboración entre agencias reguladoras, la academia y la industria es esencial para establecer marcos regulatorios que permitan la aceptación generalizada de datos generados por estos nuevos métodos, acelerando su implementación global y fomentando la innovación (Adler et al., 2011).
- **Medicina Personalizada Basada en iPSC Profundizada:** Se profundizará aún más en la utilización de iPSC específicas de pacientes para estudiar riesgos teratogénicos personalizados. Esto es especialmente relevante para poblaciones vulnerables o aquellos con predisposición genética a ciertas malformaciones o sensibilidades. Al comprender las diferencias individuales en la respuesta a teratógenos, se podrán desarrollar estrategias de prevención y manejo más precisas y adaptadas, moviéndonos hacia una era donde la seguridad del embarazo sea optimizada a nivel individual.

BIBLIOGRAFIAS

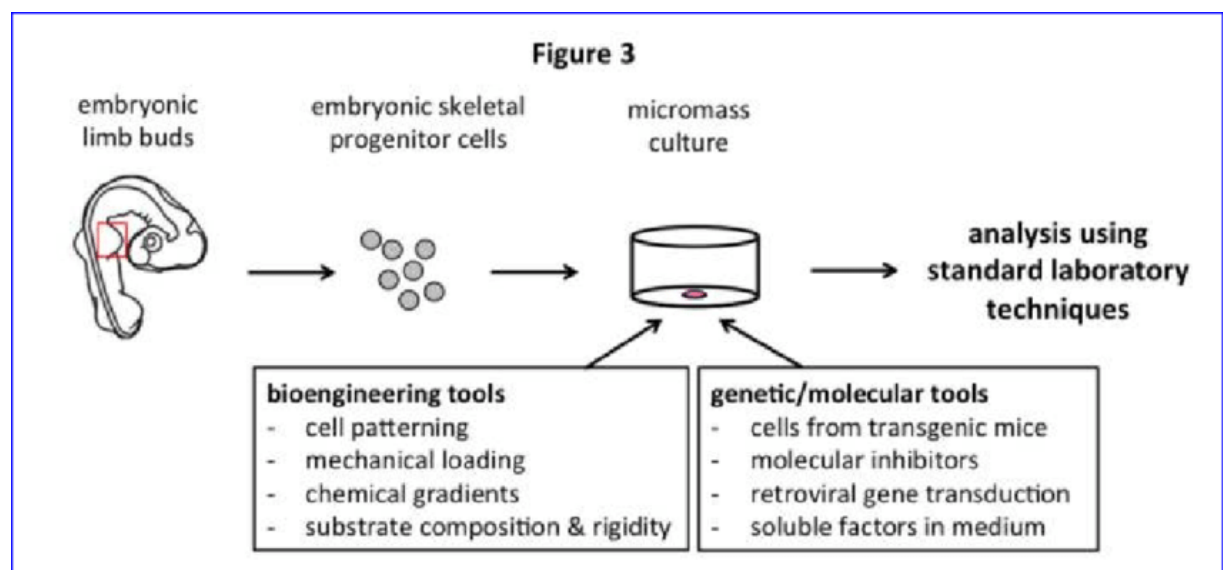
- Adler, S., Basketter, D., Creton, S., Pelkonen, O., van Benthem, J., Zuang, V., ... & Eskes, C. (2011). Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects—2010. *Archives of Toxicology*, 85(5), 367–485.
- Hartung, T. (2009). Toxicology for the twenty-first century. *Nature*, 460(7252), 208–212.
- Pamies, D., & Hartung, T. (2017). 21st century cell culture for 21st century toxicology. *Chemical Research in Toxicology*, 30(1), 43–52.
- Piersma, A. H., Bosgra, S., van Duursen, M. B., Hermesen, S. A., & Genschow, E. (2017). Developmental toxicity testing of pharmaceuticals and industrial chemicals with in vitro systems. *Pediatric Research*, 81(2), 236–245.
- van der Zalm, E., et al. (2020). Organoids: Advances in culture, analysis, and applications. *Toxicology In Vitro*, 63, 104715.

ANEXOS

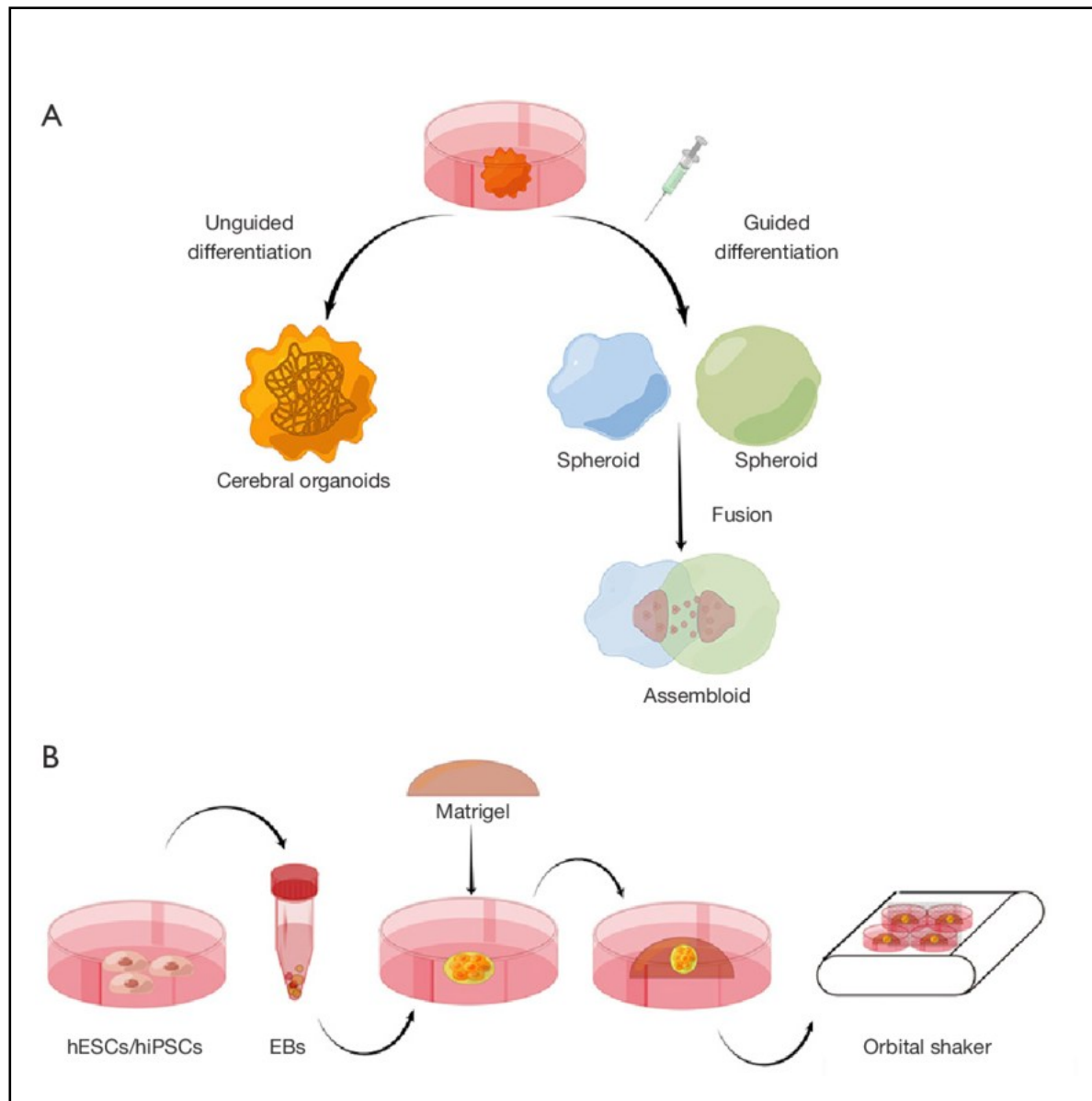
ANEXO1: DIAGRAMA EST



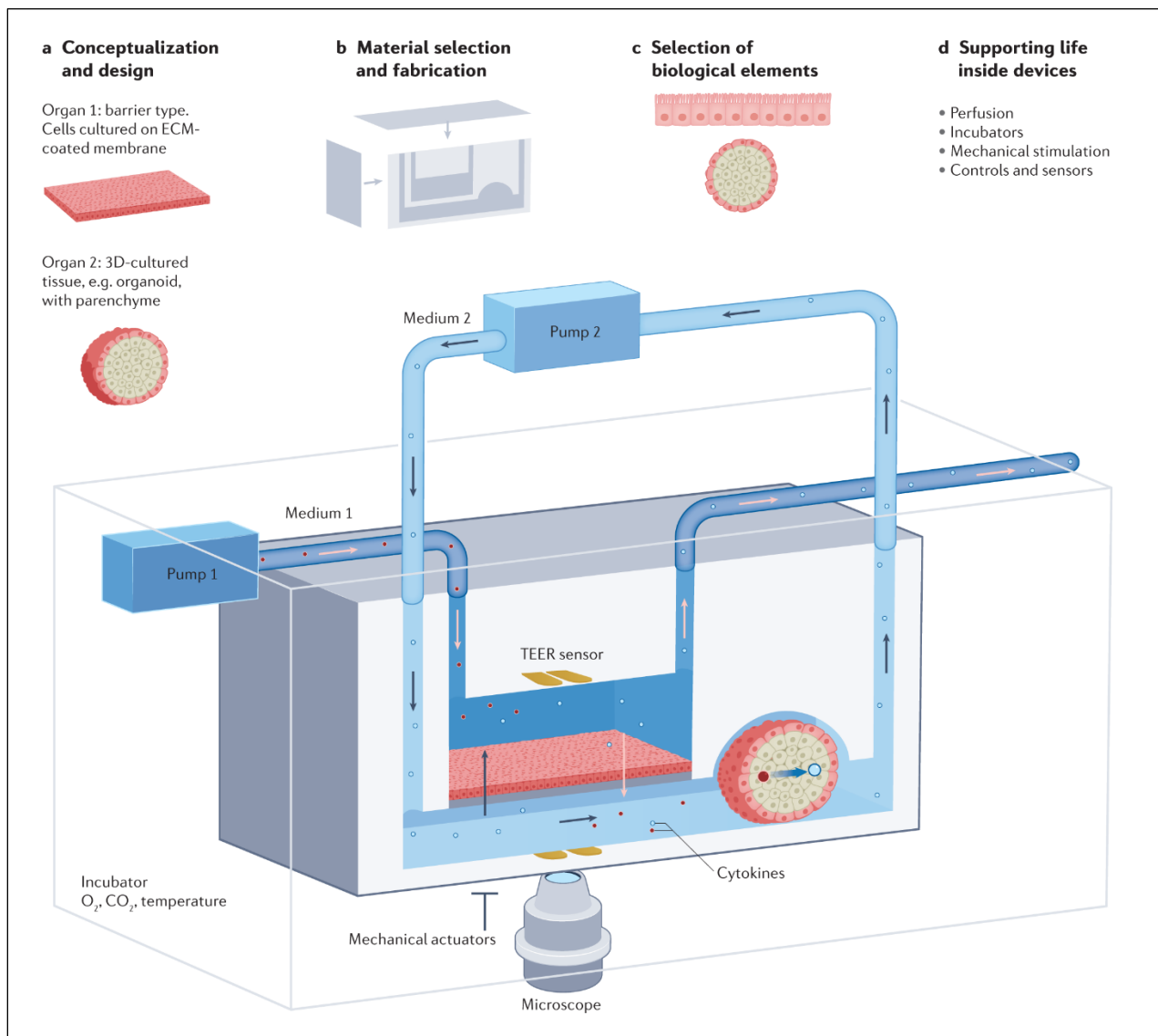
ANEXO2: DIAGRAMA MICROMASS CULTURE



ANEXO 3: ORGANOIDES CEREBRALES



ANEXO 4: ORGAN ON A CHIP



ANEXO 5: Video explicativo sobre células madre pluripotentes y diferenciación:

- [Células Madre Pluripotentes Inducidas \(iPSCs\): Qué son y para qué sirven \(TED-Ed\)](#) (Si bien no es específicamente de teratogénesis, explica la base de las iPSC).

ANEXO 6: Animaciones sobre Organ-on-a-chip:

- [What is an Organ-on-a-Chip? \(Wyss Institute at Harvard University\)](#)