

Los Problemas con el Test de Draize

Stephen R. Kaufman, M.D.

Como oftalmólogo, apoyo totalmente el uso de alternativas a la prueba de Draize para determinar irritabilidad ocular de productos cosméticos y hogareños. La prueba de Draize es científicamente poco sólida e inaplicable en situaciones clínicas.

La dependencia sobre esta prueba es de hecho peligrosa, porque los datos provenientes de animales no pueden ser extrapolados en forma segura al hombre. Las sustancias "probadas" como seguras en animales de laboratorio pueden de hecho ser peligrosas para las personas.

Como Residente Principal, tengo tres años de experiencia en el Hospital de Bellevue (un Centro para Traumas Oculares), donde he tratado cantidad de heridas tóxicas de ojos en la sala de emergencias. Yo nunca he utilizado los datos de Draize para ayudar al cuidado de un paciente. Además, no sé de ningún caso en el que otro oftalmólogo encontrara los datos de Draize, útiles.

Las pruebas de irritación ocular a menudo se realizan para diferenciar en forma exacta sustancias como tóxicas o no tóxicas.

Aquí, el ensayo de Draize, debido a sus insuficiencias científicas, falla en forma desastrosa. La prueba de Draize utiliza conejos porque ellos son **económicos, tienen ojos grandes, y son fácil de manejar**. Sin embargo, el conejo es un modelo inadecuado e inexacto para estudiar el daño ocular humano. Las siguientes son parte de las diferencias anatómicas fundamentales entre el párpado del conejo y el párpado humano, mecanismo de lagrimeo, y cornea:(1-6)

- La capa epitelial del conejo (superficie), es 10 veces más permeable a solutos hidrofílicos que en el ojo humano.
- La membrana de Bowman (la capa siguiente) es seis veces más espesa en el hombre.
- El umbral de dolor del conejo en el ojo es mucho más alto que en el de los humanos, así que las sustancias irritantes no se notan tan rápidamente.
- Los conejos tienen un sistema lacrimal menos eficiente que el de los humanos.
- A la inversa que la gente, los conejos tienen una membrana para parpadear (guiñar) (tercer párpado), que tiene un efecto poco claro en la eliminación de materias extrañas.
- Los humanos desarrollan vacuolas epiteliales en la córnea en respuesta a algunas sustancias tóxicas, pero los conejos no.
- El espesor medio de la córnea de un conejo es de 0,37 Mm., mientras en el hombre es de 0,51 Mm.
- Los conejos son más susceptibles al daño por sustancias alcalinas, porque el pH de su humor acuoso es de 0,82 comparado a 0.71-0.73 para el hombre.
- La córnea representa el 25% del área del ojo en el conejo, pero sólo el 7% del área en el hombre.

Debido a estas diferencias, los datos de Draize se correlacionan mal con las experiencias reales en humanos. Verdaderamente, los datos humanos, disponibles y limitados han demostrado la insuficiencia de la prueba de Draize. Freeberg et al. (7) informaron sobre 281 exposiciones oculares humanas sobre toxicidad a 14 productos hogareños, y ellos compararon los hallazgos con los resultados de las pruebas de Draize. Las experiencias con humanos difieren de los resultados de Draize por un factor superior a 250. La correlación más cercana difieren por un factor de 18. Además, la severidad de la respuesta del ojo del conejo predijo mal el grado de la herida ocular en humanos. El coeficiente de la correlación entre el conejo y la respuesta humana era sólo de 0,48 con $P > .1$. Así, la prueba de Draize predice en forma escasa e ineficiente la toxicidad en el ojo humano. Verdaderamente, Griffith y Freeberg escribieron:

La prueba extensamente utilizada de irritación del ojo en conejo de Draize/FHSA nunca se ha validado con alguna base de datos de humanos. Como sustituto *in vivo* para predecir la respuesta

ocular humana a sustancias irritantes, se ha criticado fuertemente por ambos motivos, técnicos y humanos. ..(8)

El pobre desempeño de la prueba de Draize y las diferencias anatómicas fundamentales entre el ojo del humano y el del conejo destaca los defectos de la prueba *in vivo* contra una alternativa *in vitro*. Mientras en el modelo *in vivo* hace que se posterguen las diferencias anatómicas y fisiológicas entre el experimental animal y el hombre, la tecnología *in vitro* pueden desarrollar mejores ensayos. Así, debemos alentar el refinamiento de tecnologías *in vitro* eliminando los ensayos *in vivo* que han demostrado ser inferiores o inadecuados. Cuando no existan pruebas aceptables *in vitro*, podríamos continuar las pruebas animales hasta buscar por mejores pruebas alternativas.

La eliminación de la prueba de Draize a favor de alternativas alentaría mucho el desarrollo de técnicas sustitutivas en todas las áreas de pruebas de toxicidad. La tecnología *in vitro* ya permite una batería de pruebas que compiten favorablemente con la prueba de Draize. Shopsis et al. encontraron un coeficiente de correlación de 0,84 para la evaluación de la citotoxicidad en un programa de validación externo.(9). Los ensayos de Citotoxicidad tienen gran potencial. Como destaca Maurice, de ello "no es improbable que la acción citotóxica de agentes en la córnea sea casi enteramente no-específica y que las células de muchos tipos diferentes responderían en forma muy semejante a los de la córnea si su exposición al agente pudiera ser medido."(10). Leighton et al. han desarrollado un modelo de embrión de polluelo, como prueba del componente inmune de la irritación. (11). El sistema Eyetex™, utilizando un reactivo químico de solutos macromoleculares, registraron la misma clasificación de irritabilidad que la prueba de Draize en 61 a 67 sustancias químicas probadas, y las otras seis estaban dentro de una clasificación de irritabilidad de Draize. Había una correlación general de 96%.(12)

Dada la insuficiencia de la prueba de Draize y la certeza demostrada de métodos alternativos, es lamentable que la FDA, se hayan opuesto a la legislación contra la prueba de Draize. Hertzfeld y Myers observaron:

...Si todos los ensayos o pruebas se convirtieran en ensayos *in vitro*, entonces muchas firmas ahora enfrascadas en la experimentación con animales encontraría que sus laboratorios serían prácticamente inútiles.. El statu quo es un poderoso motivador para esas firmas que por ahora son muy rentables. Las autoridades regulatorias tienden a seguir, no a dirigir hacia la incorporación de las nuevas tecnologías, y ellos están en su lugar, influidos fuertemente por intereses industriales.(13)

El progreso en las pruebas de seguridad de los productos no vendrá del exceso de confianza en modelos animales caducos. La prueba de Draize nunca fue y nunca será un ensayo seguro de irritabilidad. Cuando las tecnologías modernas se desarrollen, no puede seguir siendo considerado el "patrón oro." Sostengo el uso continuado de pruebas de toxicidad en animales mientras no haya alternativas adecuadas. Sin embargo, si fallamos en la eliminación de la prueba de Draize al obligar sin las pruebas científicas que sostengan tal acción, a continuar con el mismo, entonces el entusiasmo para desarrollos de todas las tecnologías alternativas disminuirá.

References:

1. Clelatt, KN (Ed): *Textbook of Veterinary Ophthalmology*. Lea & Febiger, Philadelphia. 1981.
2. Prince JH, Diesem CD, Eglitis I, Ruskell GL: *Anatomy and Histology of the Eye and Orbit in Domestic Animals*. Charles C. Thomas, Springfield, 1960.
3. Saunders LZ, Rubin LF: *Ophthalmic Pathology in Animals*. S. Karger, New York, 1975.
4. Swanston DW: Eye irritancy testing. In: Balls M, Riddell RJ, Warden AN (Eds). *Animals and Alternatives in Toxicity Testing*. Academic Press, New York, 1983, pp. 337-367.

5. Buehler EV, Newmann EA: A comparison of eye irritation in monkeys and rabbits. *Toxicol Appl Pharmacol* 6:701-710:1964.
6. Sharpe R: The Draize test-motivations for change. *Fd Chem Toxicol* 23:139-143:1985.
7. Freeberg FE, Hooker DT, Griffith JF: Correlation of animal eye test data with human experience for household products: an update. *J Toxicol-Cut & Ocular Toxicol* 5:115-123:1986.
8. Griffith JF, Freeberg FE: Empirical and experimental bases for selecting the low volume eye irritation test as the validation standard for *in vitro* methods. In: Goldber AM (Ed): *In Vitro Toxicology: Approaches to Validation*. New York, Mary Ann Liebert, 1987, pp. 303-311.
9. Shopsis C, Borenfreund E, Stark DM: Validation studies on a battery of potential *in vitro* alternatives to the Draize test. In: Goldberg AM (Ed): *In Vitro Toxicology: Approaches to Validation*. New York. Mary Ann Liebert, 1987, pp. 31-44.
10. Maurice D: Direct toxicity to the cornea: a nonspecific process? In: Goldberg AM (Ed): *In Vivo Toxicology: Approaches to Validation*. New York. Mary Ann Liebert 1987, pp. 91-93.
11. Leighton J, Nassauer J, Tchao R, Verdone J: Development of a procedure using the chick egg as an alternative to the Draize rabbit test. In: Goldberg AM (Ed): *Product Safety Evaluation*. New York. Mary Ann Liebert, 1983, pp. 165-177.
12. Gordon VC, Bergman HC: The EYETEX-MPA system. Presented at the Symposium, Progress in *In Vitro* Technology, Johns Hopkins University School of Hygiene and Public Health, Baltimore, Maryland, November 44, 1987.
13. Hertzfeld HR, Myers TD: The economic viability of *in vitro* testing techniques. In: Goldberg AM (Ed): *In Vitro Toxicology*. New York. Mary Ann Liebert, 1987, pp. 189-202.