



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Bioensayo de carcinogenicidad en roedores a
2-años: Desempeño, y valores predictivos para
múltiples fármacos y otras sustancias de interés**

Jose Daniel Suarez Torres

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia
Bogotá, Colombia
Octubre, 2022

Bioensayo de carcinogenicidad en roedores a 2-años: Desempeño, y valores predictivos para múltiples fármacos y otras sustancias de interés

Jose Daniel Suarez Torres (Biólogo)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4696-8407>

Cédula de ciudadanía colombiana: **1.125.250.186**

jdsuarezto@outlook.com

Tesis presentada como requisito para optar al título de posgrado:

Doctor en Ciencias Farmacéuticas

Director de tesis:

Farmacéutico, D.Sc. en Farmacología, **Carlos Eduardo Ciangherotti Franco**
Profesor agregado, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela

Codirector de tesis:

Médico Veterinario, D.Sc. en Farmacología y Terapéutica, **Camilo Alberto Orozco Sanabria**
Profesor asociado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de
Colombia

Línea de Investigación (dentro del programa Doctorado en Ciencias Farmacéuticas):

Farmacología

Grupo de Investigación:

Farmacología y Fisiología Veterinaria (Liderado por el codirector Prof. Camilo Orozco,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia

Bogotá, Colombia

Octubre, 2022

*En el camino hacia el conocimiento, la tecnología,
y la innovación, todos podemos ser parte de la
brújula.*

(El presente autor)

*Dedicado a mis padres: Elizabeth Torres de
Suarez, y Camilo Suarez Tafur, quienes apoyaron
siempre mi búsqueda de la formación y vocación.*

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional: «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional con respecto de los derechos de autor. En tal sentido, **esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.**

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

Además, he obtenido el permiso (del autor o editor) para incluir en esta tesis cualquier material con derechos de autor (p. ej., tablas, figuras, instrumentos de encuesta, o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Jose Daniel Suarez Torres

Cédula de ciudadanía colombiana **1.125.250.186**

21-octubre-2022

Bogotá, Colombia

Agradecimientos

Al director de esta tesis, el Prof. **Carlos Eduardo Ciangherotti Franco** (D.Sc.), quien, a pesar de los obstáculos encontrados en el camino, fue el primero en apoyar comprometidamente el proyecto y la investigación que dieron lugar a esta tesis. Mi agradecimiento también al Prof. **Camilo Alberto Orozco Sanabria** (D.Sc), quien asumió el indispensable rol de ser el *codirector de tesis* por parte de la Universidad Nacional de Colombia. Mi agradecimiento a ambos profesores, por cuestionar, supervisar, y respaldar una investigación científica que, en un principio, no hacía parte de sus líneas de investigación.

Agradezco a ambos profesores, por darme la libertad de formular, conducir, y ser responsable de la investigación científica que produjo esta tesis. Sin la vocación de los Profesores **Carlos Ciangherotti** y **Camilo Orozco** hacia la formación de nuevos científicos, y promoción de nuevos talentos, esta tesis no habría sido posible tal y como hoy se entrega a la comunidad de la Universidad Nacional de Colombia.

I. Resumen

Bioensayo de carcinogenicidad en roedores a 2-años: Desempeño, y valores predictivos para múltiples fármacos y otras sustancias de interés

El *bioensayo de carcinogénesis en roedores a 2-años* (RCB), todavía es el estándar de oro preclínico para predecir la *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias. Desde hace 40 años, el RCB es un requisito preclínico del que depende la *aprobación gubernamental de la comercialización* de una diversidad de sustancias, incluyendo **(1)** aditivos alimentarios; **(2)** principios activos de plaguicidas; **(3)** fármacos de uso crónico en humanos, y **(4)** fármacos de uso en animales productores de alimentos. Por su antigüedad, y por la necesidad que había en aquella época de implementar con urgencia *pruebas preclínicas de toxicidad*, el RCB se adoptó sin conocimiento empírico acerca de su desempeño predictivo. No obstante, aún se desconoce exactamente cuál es la *sensibilidad* y *especificidad* del RCB hacia los *carcinógenos de humanos*. Esta tesis doctoral es el producto de una investigación teórica basada en datos experimentales publicados en la literatura. En tal sentido, esta tesis se planteó las siguientes preguntas de investigación. Uno, *¿Cuál es la sensibilidad (SEN) y especificidad (SPEC) del RCB hacia los carcinógenos de humanos?* Dos, considerando que la toxicología preclínica tiene un carácter y fines predictivos, *¿Cuál es la probabilidad cuantitativa de que carezcan de carcinogenicidad innata para los humanos, sustancias específicas que ya resultaron negativas en el RCB?*

Tres, *¿Cuál es la probabilidad cuantitativa de que sean connaturalmente carcinogénicas para los humanos, sustancias específicas que ya resultaron positivas en el RCB?* Para responder dichas preguntas, esta tesis expandió y adaptó el *marco matemático propuesto por la medicina humana para estimar la sensibilidad (SEN), especificidad (SPEC), y los valores predictivos de los resultados entregados por los exámenes de tamizaje (o cribaje)*. Como *carcinógenos de humanos* desde los cuales discernir la SEN del RCB, esta tesis reconoció a las sustancias que tienen *suficiente* evidencia epidemiológica de carcinogénesis en humanos, según las evaluaciones de la IARC, el U.S. NTP, o la U.S. EPA. En materia de resultados, y en términos de vías de exposición, las vías oral e inhalatoria del RCB exhibieron 95% o más de SEN hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico con alta potencia genotóxica*. La vía inhalatoria del RCB presentó 88% de SEN hacia los *carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico*. La vía oral del RCB presentó tan sólo 65% de SEN hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*.

Como *no-carcinógenos de humanos* desde los cuales dilucidar la SPEC del RCB, esta tesis reconoció a las sustancias que tienen *suficiente* evidencia mecanicista de que carecen de *carcinogenicidad innata para los humanos* (p. ej., evidencia mecanicista en términos de *mecanismos de acción farmacológica, o mecanismos de acción toxicológica*). Hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*, y basado sólo en *no-carcinógenos de humanos con muy bajo potencial de carcinogenicidad en el RCB*, esta tesis estimó 95% o más de SPEC para la vía oral del RCB. Con base en las SENs y SPEC mencionadas previamente, y mediante las ecuaciones proporcionadas por **(1)** la *estadística Bayesiana*, o **(2)** por la aproximación desarrollada en esta tesis bajo el nombre de la *probabilidad de verosimilitud*, encontramos los siguientes resultados adicionales. Primero, 98% de probabilidad de que 52 sustancias específicas sean *connaturalmente carcinogénicas para los humanos* por ingestión o inyección, entre ellas numerosos fármacos de uso *antineoplásico* o *no-antineoplásico*

en humanos. Segundo, un 96% de probabilidad de que otras 68 sustancias específicas carezcan de *carcinogenicidad innata para los humanos* por ingestión, incluyendo varios **(1)** colorantes de alimentos, medicamentos, y cosméticos; **(2)** principios activos de productos plaguicidas, y **(3)** fármacos de uso no-antineoplásico en humanos. De ese modo, esta tesis entregó una amplia discusión, así como numerosas conclusiones y recomendaciones acerca de **(1)** el desempeño del RCB como modelo para el pronóstico preclínico de la *carcinogenicidad innata de las sustancias* para los humanos; **(2)** distintas configuraciones para el RCB (p. ej., en términos de dosis, especies, o vías de exposición de los roedores a las sustancias de prueba); **(3)** del futuro del RCB en la práctica reguladora; **(4)** de las aproximaciones probabilísticas como una vía para traducir la relevancia (o insignificancia) clínica de hallazgos preclínicos particulares, y **(5)** la pertinencia de las predicciones de *carcinogenicidad (o de carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos*, entregada por esta tesis para 120 sustancias específicas.

Palabras clave: Bioensayo de carcinogénesis a 2-años; Carcinogenicidad innata; Carcinogénesis química; Ciencia regulatoria; Toxicología predictiva; Farmacología traslacional.

II. Abstract

Two-year rodent carcinogenicity bioassay: Performance, and predictive values for several pharmaceuticals and other chemicals of interest

At the preclinical level, the 2-year rodent carcinogenesis bioassay (RCB) is the gold standard to predict the *innate carcinogenicity to humans* of substances. For 40 years, the RCB has been a preclinical requirement for the regulatory approval of a variety of chemicals, including **(1)** food additives; **(2)** active ingredients of pesticides; **(3)** pharmaceuticals for chronic use in humans, and **(4)** for drugs used in food-producing animals. Due to its antiquity, and the need in those days for an urgent deployment of preclinical tests, the RCB was adopted without knowledge of its true *predictive performance*. Although the RCB is regulatorily in force, the *sensitivity* and *specificity* of the RCB towards *human carcinogens* remain unknown. This doctoral thesis is the product of theoretical research based on experimental data available in the literature. In that respect, this thesis addressed the following research questions. One, *what is the sensitivity (SEN) and specificity (SPEC) of the RCB towards human carcinogens?* Two, considering the predictive nature and the predictive purpose of preclinical toxicology, *what is the numerical probability that specific chemicals that tested negative in the RCB actually lack any carcinogenicity to humans?* And third, *what is the numerical probability that specific substances that tested positive in the RCB are innately carcinogenic to humans?*

To answer those questions, this thesis expanded and adapted the mathematical framework used in human medicine to evaluate the *sensitivity (SEN)*, *specificity (SPEC)*, and the *predictive value* of the results provided by medical screening tests. As *human carcinogens* (on which to base the SEN of the RCB), we recognized those chemicals with sufficient epidemiological evidence of carcinogenicity in humans, according to the evaluations published by the IARC, the U.S. NTP, or the U.S. EPA. As a result, both the oral and inhalation routes of the RCB showed more than 95% SEN towards *human carcinogens with high genotoxic potency*. The inhalation route of the RCB displayed 88% SEN towards *non-mutagenic human carcinogens by inhalation*. Toward *non-mutagenic human carcinogens by ingestion*, the RCB's oral route displayed as few as 65% SEN. As *human non-carcinogens* (from which to elucidate the SPEC of the RCB), this thesis recognized those chemicals with sufficient mechanistic evidence that they lack *innate carcinogenicity to humans* (e.g., mechanistic evidence in terms of their *mechanism of action*, their *mechanistic toxicology*, or their *basic pharmacology*).

Thereby, towards *non-mutagenic human carcinogens by ingestion*, and based only on *human non-carcinogens with scant carcinogenic potential*, this thesis estimated a 95% SPEC for the oral route of the RCB. Based on the SENs and SPEC mentioned before, and through the equations provided by **(1)** the *Bayesian statistics*, or **(2)** the method developed here and named the *probability of verisimilitude*, we found the following additional results. First, a 98% probability that 52 specific chemicals are *innately carcinogenic to humans by ingestion or injection*, including several pharmaceuticals of either antineoplastic or non-antineoplastic use in humans. Second, a 96% probability that 68 other substances lack *innate carcinogenicity to humans by ingestion*, including various **(1)** food, drug, and cosmetic colorants; **(2)** active ingredients of pesticides, or **(3)** several pharmaceuticals used in the treatment of human non-neoplastic diseases. Accordingly, this thesis delivered a large discussion, together with numerous conclusions and recommendations about **(1)** the preclinical performance of the RCB, as an animal

testing method to predict the *innate carcinogenicity to humans* of chemicals; **(2)** different configurations for the RCB, including aspects such as the rodent species, doses, endpoints, or routes of exposure; **(3)** the future of the RCB in regulatory policy; **(4)** the probabilistic approaches used in this thesis, as a mode for translating the clinical relevance (or insignificance) of specific preclinical findings, and **(5)** the clinical and regulatory implications of the predictions placed by this thesis, about the *innate carcinogenicity to humans (or the lack of innate carcinogenicity to humans)* of 120 chemicals of either therapeutic or toxicological interest.

Keywords: 2-year carcinogenesis bioassay; Innate carcinogenicity; Chemical carcinogenesis; Regulatory science; Predictive toxicology; Translational pharmacology.

III. Contenido

I. Resumen	VI
II. Abstract.....	VIII
III. Contenido.....	X
IV. Índice de tablas.....	XIII
V. Índice de figuras.....	XV
VI. Lista de abreviaciones.....	XVII
VII. Nota al lector (Glosario).....	XIX
1. Introducción	1
2. Marco Teórico.....	2
3. Problema de investigación.....	5
4. Justificación	6
5. Preguntas de investigación.....	7
6. Hipótesis de trabajo	7
7. Objetivo generales (Objetivos direccionales).....	8
8. Objetivos específicos.....	9
9. Metodología - Parte 1 (Objetivos Específicos #1 y #2).....	9
9.1. Tipo de investigación y su justificación	9
9.2. Materiales bibliográficos y fuentes de información	10
9.3. Evaluación de la sensibilidad del RCB.....	11
9.3.1. Cálculo.....	11
9.3.2. Reconocimiento de las sustancias positivas al estándar de referencia del RCB.....	12
9.3.3. Reconocimiento de los resultados (o desenlaces) de las sustancias en el RCB.....	13
9.4. Estimación de la especificidad del RCB.....	22
9.4.1. Cálculo.....	22
9.4.2. Reconocimiento de las sustancias negativas al estándar de referencia	23

9.4.3. Reconocimiento de los resultados (o desenlaces) de las sustancias en el RCB.....	25
10. Metodología (Parte 2: Objetivos Específicos #3 y #4).....	26
10.1. Cálculos (<i>valores predictivos y probabilidades de verosimilitud</i>).....	26
10.2. Estimación de la probabilidad de <i>carcinogenicidad innata para los humanos</i> de varios fármacos, otras drogas, y otras sustancias de interés	31
10.2.1. Selección de los agentes químicos.....	31
10.2.2. Identificación de la <i>mutagenicidad</i> de las sustancias.....	32
10.2.3. Computación.....	34
10.3. Estimación de la probabilidad de <i>carencia de carcinogenicidad innata para los humanos</i> de varias drogas y otras sustancias de interés.....	37
10.3.1. Selección de los agentes químicos.....	37
10.3.2. Categorización de las sustancias.....	38
10.3.3. Computación.....	43
11. Resultados.....	45
12. Datos.....	46
12.1. Descripción y referenciación de los datos	46
13. Discusión.....	62
13.1. Desempeño predictivo del RCB.....	62
13.1.1. Configuración, con foco en la selección de las especies.....	62
13.1.2. Configuración, con foco en la dosificación.....	67
13.1.3. Discusión de esta tesis con respecto del pasado, presente, y futuro del RCB en la política reguladora	72
13.2. Aproximaciones probabilísticas para traducir la pertinencia (o insignificancia) clínica de los resultados de los bioensayos preclínicos.....	75
13.2.1. La aproximación probabilística como adyuvante en la traducción clínica de los hallazgos preclínicos	75
13.2.2. Fortalezas, debilidades, e implicaciones de los <i>valores predictivos y probabilidades de verosimilitud</i>	76

13.3. Confiabilidad de las ~probabilidades de carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos~ estimadas por esta tesis	81
13.4. Cuestionamiento a los enfoques probabilísticos para inferir la relevancia (o insignificancia) clínica de los hallazgos preclínicos	84
13.5. Sobre el pronóstico de ~carcinogenicidad innata para los humanos~ de las sustancias del objetivo específico #3	86
13.5.1. Base farmacológica y toxicológica	86
13.5.2. Potencial relevancia clínica y reguladora	87
13.6. Sobre la predicción de ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos~ de las sustancias del objetivo específico #4	93
13.6.1. Discusión sobre aspectos metodológicos	93
13.6.2. Potencial relevancia de los pronósticos de ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos~ de esta tesis	105
14. Conclusiones y Recomendaciones	108
14.1. Conclusiones	108
14.2. Recomendaciones	112
15. Publicaciones en revistas indexadas de la metodología, resultados, discusión, y conclusiones de esta tesis	116
16. Referencias	118
17. Anexo A: Tablas Suplementarias	133

IV. Índice de tablas

Tabla 1. Materiales bibliográficos usados como en esta tesis como fuente de datos experimentales.....	11
Tabla 2. Fuentes de información y motores de búsqueda consultados en esta tesis.....	12
Tabla 3. Algoritmos aplicados para extrapolar al RCB los desenlaces de algunos NC-RCBs.....	17
Tabla 4. Aspectos metodológicos que fueron requeridos en esta tesis, para reconocer ciertos <i>estudios de carcinogénesis química en roedores</i> de la literatura, como atribuibles o extrapolables al RCB.....	19
Tabla 5. Aspectos metodológicos que fueron requeridos en esta tesis para atribuir al RCB, ciertos <i>estudios de carcinogénesis en roedores concurrentes con ausencia de carcinogénesis química</i>	19
Tabla 6. Criterios empleados aquí para identificar la <i>mutagenicidad</i> de las sustancias.....	21
Tabla 7. Modos de acción carcinogénica de los <i>carcinógenos de tipo no-mutagénico</i>	21
Tabla 8. Criterios para extrapolar la carcinogenicidad de una sustancia, observada en los RCBs mediante una vía de exposición, a otras vías del RCB por las que dicha sustancia aún no ha sido ensayada.....	22
Tabla 9. Características mecanicistas usadas en esta tesis como indicativo parcial de la <i>carencia de carcinogenicidad innata para los humanos</i> de sustancias específicas.....	24
Tabla 10. Bases de datos consultadas en esta tesis para encontrar potenciales <i>no-carcinógenos de humanos</i> ya ensayados en el RCB.....	25
Tabla 11. Prevalencia de los criterios empleados aquí para reconocer la <i>mutagenicidad</i> de los agentes químicos (criterios especificados en la Tabla 6).....	33
Tabla 12. Fuentes de información consultadas para conocer los resultados de determinadas sustancias en las pruebas de toxicología genética (t.c.c. pruebas de genotoxicidad).....	33
Tabla 13. Estimación de la sensibilidad del criterio <i>~Ausencia de (incrementos estadísticos en la incidencia de las) Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~</i> hacia los <i>no-carcinógenos de humanos</i>	38
Tabla 14. Estimación de la especificidad del criterio <i>~Ausencia de (incrementos estadísticos en la incidencia de las) Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~</i> hacia los <i>no-carcinógenos de humanos</i>	41
Tabla 15. Fuentes de información consultadas para conocer los resultados de genotoxicidad o en el RCB (p. ej., incidencia lesiones pre-neoplásicas) de las sustancias del objetivo específico #4.....	43
Tabla 16. (<i>Resultados</i>). Estimación del desempeño predictivo del RCB como método preclínico para pronosticar los peligros químicos de cáncer humano.....	47
Tabla 17. (<i>Resultados</i>). Estimación de la probabilidad de <i>carcinogenicidad innata para los humanos</i> de varios fármacos y otras sustancias de interés.....	48

Tabla 18. (<i>Resultados</i>). Estimación de la probabilidad de <i>carencia de carcinogenicidad innata para los humanos</i> de varias sustancias de interés (incluyendo fármacos de la medicina humana).....	51
Tabla 19. Fármacos actualmente aprobados en la Unión Europea, los EUA o Canadá, para los que esta tesis estimó un 98.1% (o más) de probabilidad de <i>carcinogenicidad innata para los humanos</i>	55
Tabla 20. Otras informaciones relevantes acerca de los fármacos del objetivo específico #3, actualmente aprobados en la Unión Europea, los EUA, o Canadá.....	57
Tabla 21. Descripción y referenciación de los datos experimentales en los que se basó esta tesis.....	60
Tabla A1. (<i>Datos</i>). Desenlaces en el RCB de los <i>carcinógenos de humanos de tipo mutagénico</i> reconocidos en esta tesis.....	133
Tabla A2. (<i>Datos</i>). Datos de toxicología genética de los <i>carcinógenos de humanos de tipo mutagénico</i> reconocidos en esta tesis.....	135
Tabla A3. (<i>Metodología</i>). Validación de los criterios empleados en esta tesis para identificar sustancias con <i>mutagenicidad innata para los humanos</i>	138
Tabla A4. (<i>Resultados</i>). Estimación de la sensibilidad del RCB hacia los <i>carcinógenos de humanos de tipo mutagénico</i>	140
Tabla A5. (<i>Resultados</i>). Estimación de la sensibilidad del RCB hacia los <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i>	142
Tabla A6. (<i>Resultados</i>). Sensibilidad del RCB por los <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i> (análisis restringido a las sustancias ensayadas tanto en el RCB-rata como en el RCB-ratón).....	146
Tabla A7. (<i>Resultados</i>). Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias identificadas en esta tesis como <i>carentes de carcinogenicidad innata sobre los humanos</i> (incluye una estimación de la especificidad del RCB hacia los <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i>)	148
Tabla A8. (<i>Datos</i>). Desenlaces en el RCB, y mecanismos de acción mutagénica, de las sustancias blanco del objetivo específico #3.....	155
Tabla A9. (<i>Datos</i>). Datos de toxicología genética de las sustancias del objetivo específico #3.....	159
Tabla A10. (<i>Datos</i>). Desenlaces en el RCB, datos de histopatología, y datos de genotoxicidad de las sustancias blanco del objetivo específico #4.....	162

V. Índice de figuras

Figura 1. Clasificación de los <i>carcinógenos de humanos</i> (o de los <i>no-carcinógenos de humanos</i>) ensayados en el RCB, a efectos de estimar la <i>sensibilidad</i> o <i>especificidad</i> del RCB.....	15
Figura 2. Algoritmo empleado en esta tesis para reconocer el resultado de los <i>carcinógenos de humanos</i> (o de los <i>no-carcinógenos de humanos</i>) en el RCB-rata.....	15
Figura 3. Algoritmo empleado en esta tesis para reconocer el resultado de los <i>carcinógenos de humanos</i> (o de los <i>no-carcinógenos de humanos</i>) en el RCB-ratón.....	15
Figura 4. Algoritmo empleado en esta tesis para reconocer el resultado de los <i>carcinógenos de humanos</i> (o de los <i>no-carcinógenos de humanos</i>) en los RCBs de 2-especies.....	16
Figura 5. Estructura bidimensional de la <i>tartrazina</i> (Fig. 5A, CASRN 1934-21-0) y de la <i>laca de aluminio de la tartrazina</i> (Fig. 5B, CASRN 12225-21-7).....	95
Figura 6. Estructura bidimensional de los colorantes Patent Blue VF (Fig. 6A, CASRN 129-17-9) y Patent Blue V (Fig. 6B, CASRN 3536-49-0).....	95
Figura 7. Estructura bidimensional de la <i>avermectina B1a</i> (Fig. 7A, CASRN 65195-55-3) y de la <i>avermectina B1b</i> (Fig. 7B, CASRN 65195-56-4).....	97
Figura 8. Estructura bidimensional de la <i>emamectina B1a</i> (Fig. 8A, PubChem CID 11549937) y de la <i>emamectina B1b</i> (Fig. 8B, PubChem CID 15279960).....	97
Figura 9. Estructura bidimensional de la <i>eprinomectina B1a</i> (Fig. 9A, CASRN 133305-88-1) y de la <i>eprinomectina B1b</i> (Fig. 9B, CASRN 133305-89-2).....	97
Figura 10. Estructura bidimensional de la <i>emamectina B1a</i> (Fig. 10A, PubChem CID 11549937) y de la <i>eprinomectina B1a</i> (Fig. 10B, CASRN 133305-88-1).....	98
Figura 11. Estructura bidimensional de la <i>doramectina</i> (Fig. 11A, CASRN 117704-25-3) y de la <i>avermectina B1a</i> (Fig. 11B, CASRN 65195-55-3).....	98
Figura 12. Estructura bidimensional de la <i>ivermectina B1a</i> (Fig. 12A, CASRN 71827-03-7) y de la <i>avermectina B1a</i> (Fig. 12B, CASRN 65195-55-3).....	98
Figura 13. Estructura bidimensional de la <i>ivermectina B1a</i> (Fig. 13A, CASRN 71827-03-7) y de la <i>ivermectina B1b</i> (Fig. 13B, CASRN 70209-81-3).....	99
Figura 14. Estructura bidimensional de la <i>milbemicina A3</i> (Fig. 14A, CASRN 51596-10-2) y de la <i>milbemicina A4</i> (Fig. 14B, CASRN 51596-11-3).....	99
Figura 15. Estructura bidimensional de la <i>moxidectina</i> (Fig. 15A, CASRN 113507-06-5) y de la <i>milbemicina A4 5-oxima</i> (Fig. 15B, PubChem CID 91617829).....	99

Figura 16. Estructura bidimensional de la <i>milbemicina A4 5-oxima</i> (Fig. 16A, PubChem CID 91617829) y de la <i>milbemicina A4</i> (Fig. 16B, CASRN 51596-11-3).....	100
Figura 17. Estructura bidimensional de la <i>milbemicina A3 5-oxima</i> (Fig. 17A, PubChem CID 91617476) y de la <i>milbemicina A4 5-oxima</i> (Fig. 17B, CASRN 51596-11-3).....	100
Figura 18. Estructura bidimensional de la <i>moxidectina</i> (Fig. 18A, CASRN 113507-06-5) y de la <i>nemadectina</i> (Fig. 18B, PubChem CID 6436124).....	100
Figura 19. Estructura bidimensional de la <i>espinosina A</i> (Fig. 19A, CASRN 131929-60-7) y de la <i>espinosina D</i> (Fig. 19B, CASRN 131929-63-0).....	103
Figura 20. Estructura bidimensional del <i>tianfenicol</i> (Fig. 20A, CASRN 15318-45-3) y del <i>tianfenicol glicinato</i> (Fig. 20B, CASRN 2393-92-2).....	104

VI. Lista de abreviaciones

Abreviatura	Significado
3Rs	Principio de las tres erres en la experimentación con animales (Reemplazo, Reducción, y Refinamiento).
ADI	<i>Acceptable Daily Intake.</i>
CASRN®	<i>Registry number in the Chemical Abstracts Service (CAS) of the American Chemical Society (ACS).</i>
CCRIS	<i>Chemical Carcinogenesis Research Information System (U.S. NLM).</i>
CEBS	<i>Chemical Effects in Biological Systems (U.S. NTP).</i>
EFSA	<i>European Food Safety Authority.</i>
EURL ECVAM	<i>European Centre for the Validation of Alternative Methods to Animal Testing (a European Union Reference Laboratory).</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations.</i>
FAO/WHO JECFA	<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.</i>
FAO/WHO JMPR	<i>Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues.</i>
GENE-TOX	<i>Genetic Toxicology Data Bank (U.S. NLM).</i>
HSDB	<i>Hazardous Substances Data Bank (U.S. NLM).</i>
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer (World Health Organization).</i>
ICH	<i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use.</i>
m.c.c.	mejor conocido como.
MTD	<i>Maximum Tolerated Dose.</i>
NC-RCB	<i>Estudios de carcinogénesis química en roedores que no cumplieron a cabalidad con las pautas armonizadas que hoy día definen al RCB.</i>
OEL	<i>Occupational Exposure Limit.</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud (de la Organización de las Naciones Unidas).
ONU	Organización de las Naciones Unidas.
ONUAA	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
PEL	<i>Permissible Exposure Limit.</i>
PVN	Probabilidad de Verosimilitud Negativa.
PVP	Probabilidad de Verosimilitud Positiva.
RCB	Bioensayo de carcinogénesis química en roedores a 2-años.
RfD	<i>Reference Dose (a concept advanced by the U.S. EPA).</i>
SEN	Sensibilidad (de una prueba o bioensayo preclínico)
SPEC	Especificidad (de una prueba o bioensayo preclínico)
t.c.c.	también conocido como.
TWA	<i>Time Weighted Average (permissible airborne exposure in any 8-hour work shift).</i>

(continúa)

Lista de Abreviaturas (continuación)

Abreviatura	Significado
U.S. ATSDR	<i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry (United States of America)</i>
U.S. EPA	<i>Environmental Protection Agency (United States of America)</i>
U.S. EPA IRIS	<i>Integrated Risk Information System (U.S. EPA)</i>
U.S. FDA	<i>Food and Drug Administration (United States of America)</i>
U.S. NLM	<i>National Library of Medicine (United States of America)</i>
U.S. NTP	<i>National Toxicology Program (United States of America)</i>
USD	<i>United States of America Dollar.</i>
VPN	Valor Predictivo Negativo.
VPP	Valor Predictivo Positivo.
WHO	<i>World Health Organization of the United Nations.</i>

VII. Nota al lector (Glosario)

Por el bien del entendimiento, esta sección explica el uso que se dio en esta tesis algunos términos que son transversales a la farmacología, toxicología, y las ciencias farmacéuticas. La intención de esta sección no es sugerir al lector cuál es el uso más idóneo para esos términos. Esta tesis reconoce que estos términos tienen múltiples usos e interpretaciones en la literatura, la práctica médico-farmacéutica, las academias, y en el argot popular. A continuación, se presentan las definiciones empleadas en esta tesis para dichos términos.

Droga: Entidad molecular con actividad biológica. Sustancia química pura, que es biológicamente activa. Sustancia química que, al estar biodisponible, altera (o modifica) vías fisiológicas o fisiopatológicas del organismo (o individuo) involucrado.

Principio activo: Droga (En esta tesis, los términos *droga* y *principio activo* se emplearon de forma intercambiable y equivalente).

Fármaco: Droga aprobada por la autoridad sanitaria (o entidad reguladora de medicamentos) de un país, para su uso terapéutico en el tratamiento de una condición médica, una dolencia, o enfermedad.

Excipiente: Sustancia generalmente reconocida como biológicamente inactiva (o biológicamente inerte), que acompaña a uno o más fármacos en un medicamento. (Lo anterior no excluye que algunos excipientes puedan tener acciones farmacológicas o toxicológicas desconocidas para la época. Tampoco excluye que, a ciertas dosis, por ciertas vías de administración, o sobre ciertas especies de la fauna o flora, algunos excipientes puedan actuar como drogas o, alternativamente, como tóxicos).

Medicamento: Formulación farmacéutica que incluye fármacos y excipientes en forma de producto comercial, ya aprobada por la autoridad sanitaria (o entidad reguladora de medicamentos) de un país, para su uso en el tratamiento de una condición médica, una dolencia, o enfermedad.

Tóxico / Toxicante: Sustancia que, en condiciones de exposición (o tratamiento) lo suficientemente riesgosas, causa efectos adversos a la salud, la reproducción, o la vida de un organismo (o individuo). Esta definición de *toxicante* se entendió aquí como compatible con las definiciones de *droga*, *principio activo*, *fármaco*, y, por extensión, de *medicamento* (según lo definido más arriba en esta [sección VII](#)). Es decir, en condiciones de exposición peligrosas, y por las implicaciones de sus *acciones farmacológicas*, se entendió aquí que tanto las *drogas*, los *principios activos*, los *fármacos*, como los *medicamentos*, podrían todos actuar como toxicantes.

Prueba preclínica (Bioensayo preclínico): Experimento de la farmacología o toxicología preclínica, estandarizado y armonizado internacionalmente, y de aplicación gubernamental (p. ej., para regular la comercialización o usos de sustancias químicas específicas). En esta tesis, el término *prueba preclínica* se empleó intercambiamente con el de *bioensayo preclínico*. Además, en esta tesis, las *pruebas de toxicidad* se consideraron un ejemplo específico de las pruebas preclínicas (o bioensayos preclínicos).

Tumor / Neoplasma: Masa anormal de células (sin arquitectura de tejido), o masa anormal de tejido, que se forma cuando las células se replican más de lo que deberían, o cuando no mueren cuando deberían.

Neoplasia: Replicación descontrolada de células, o crecimiento anormal de tejido, que da lugar a los tumores o neoplasmas.

Cáncer: Enfermedades caracterizadas por tumores malignos que, sin control alguno, invaden los tejidos cercanos propagándose a otros órganos o sistemas del cuerpo (u organismo).

1. Introducción

Generalmente, se reconoce que la *epidemiología analítica* brinda la mejor evidencia sobre los efectos de las sustancias sobre los humanos (p. ej. efectos terapéuticos; efectos perjudiciales) [1-3]. Sin embargo, la epidemiología saca conclusiones después de analizar la distribución de enfermedades en subpoblaciones humanas [4]. Por tanto, basarse en la epidemiología para anticipar el conocimiento sobre los *efectos perjudiciales de las sustancias para los humanos*, comprometería la salud de personas (a saber, de aquellas personas que fuesen sujeto de estudio en tales investigaciones epidemiológicas). En consecuencia, **(1)** para aprobar su ensayo clínico; **(2)** autorizar su posible comercialización, o **(3)** regular sus usos, las entidades gubernamentales exigen a los fabricantes (o importadores) de medicamentos, y a los fabricantes (o importadores) de otros tipos de sustancias (p. ej., pesticidas), consignar los resultados de dichas sustancias en estudios armonizados de farmacología o toxicología preclínica. Por otra parte, el cáncer ocupa el 5to lugar entre las enfermedades no transmisibles que más muertes humanas causan en el mundo [5].

En tal sentido, se sabe que sustancias específicas (incluyendo fármacos, otros principios activos, y otros tipos de sustancias) pueden incrementar el riesgo de cáncer en las personas expuestas a, o tratadas con dichos agentes químicos (p. ej., bencidina; benceno; etinilestradiol; tamoxifeno) [6]. Al respecto, el *bioensayo de carcinogénesis en roedores a 2-años* (RCB) es una prueba preclínica de toxicidad, que está internacionalmente estandarizada y armonizada. A nivel preclínico, el RCB busca predecir con acierto la posible *carcinogenicidad innata para los humanos* de sustancias específicas [7-9]. Ciertamente, hay en desarrollo *marcos de referencia* que permitirán omitir el RCB en varios casos (p. ej., basado en la predictividad ofrecida por la combinación de pruebas de genotoxicidad, pruebas de toxicidad sub-crónica, y estudios preclínicos hormonales) [10]. No obstante, a nivel mundial, el RCB sigue siendo el estándar de referencia para predecir la posible *carcinogenicidad innata de las sustancias* para los humanos (incluyendo la posible carcinogenicidad de los *fármacos* y *excipientes* de medicamentos para uso crónico en humanos) [7-11]. En el RCB, la posible carcinogenicidad para los humanos de una *sustancia de interés* se somete a prueba mediante el tratamiento crónico, con dicha sustancia, de individuos de cada sexo de dos especies roedoras (p. ej., ratas y ratones) [7-9].

Desde luego, tal uso regulador (o reglamentario) del RCB presupone que, en las condiciones experimentales de la prueba, los resultados de carcinogénesis química observados en roedores son extrapolables y relevantes para la salud humana. Ahora bien, es importante contextualizar las desventajas del RCB, incluyendo las siguientes. Primero, su alto costo monetario. Se estima que la evaluación de una sola sustancia en el RCB cuesta alrededor de 2 millones dólares estadounidenses (USD) [12]. Segundo, sus prolongados tiempos de *entrega de resultados*, que pueden llegar hasta los dos años y medio (considerando la duración predeterminada de los tratamientos) [11]. Tercero, la gran cantidad de vidas animales que requiere. En el RCB, se emplean hasta 800 roedores por cada sustancia ensayada. Cuarto, el maltrato animal asociado al uso de *dosis máximas toleradas* (MTDs), que, dependiendo de la farmacología o toxicología de la *sustancia de prueba*, suelen ser tóxicas para los animales [8,13]. Por esas desventajas, y por el desconocimiento que hay sobre su *capacidad predictiva* (t.c.c. desempeño predictivo), el RCB ha sido duramente cuestionado a lo largo de sus (aproximados) 40 años de historia [14,15].

Por todo lo anterior, hay interés internacional en encontrar un adecuado reemplazo para el RCB [10,16]. Reemplazar el RCB por un método más económico, que prescindiera de la experimentación animal, podría mejorar el precio al consumidor de diversos productos químicos y, a su vez, cumplir con mejores estándares de bienestar animal en el despistaje de la posible *carcinogenicidad innata para los humanos* de varios tipos de sustancias. Varios métodos y marcos de referencia han sido desarrollados hasta ahora para reemplazar al RCB, algunos de los cuales se encuentran en vías de implementación, ya sea en farmacología o toxicología reguladora [10,17-19]. Sin embargo, dichos métodos alternativos han sido validados mediante la demostración de su alta concordancia (o correspondencia) con los resultados del propio RCB [10,17-19]. En adición, algunos de esos métodos alternativos contemplan todavía la conducción de RCBs, que, aunque podrían considerarse como *reducidos* o *refinados* (en nomenclatura de las 3Rs), de todas maneras, harán parte del método alternativo [10,17-19].

Aún más, no está claro si los actuales métodos alternativos ofrecen un *desempeño predictivo* mayor o igual al del RCB. Según las regulaciones actuales, sí que se sabe que los métodos alternativos todavía no han reemplazado completamente al RCB. Por tanto, se puede inferir que los actuales métodos alternativos al RCB tendrían un *desempeño predictivo* inferior al de este. Por ende, **(1)** la aprobación gubernamental de la comercialización de ciertos agentes químicos; **(2)** la regulación de los usos de varias sustancias, y **(3)** la gestión del riesgo de cáncer impuesto a los humanos por diversas sustancias potencialmente carcinogénicas para los humanos (a saber, agentes químicos carentes de estudios epidemiológicos), son ámbitos que siguen basándose significativamente en el RCB [2,3,7-9,20,21]. Atendiendo a la necesidad de esclarecer **(1)** ¿Cuál es el desempeño predictivo del RCB con respecto de los *carcinógenos de humanos?*, y **(2)** ¿Con qué certeza cuantitativa pueden las sustancias carcinogénicas en el RCB ser consideradas como *carcinogénicas para los humanos?*, esta tesis reporta la investigación que conduje para encontrar respuestas a dichas preguntas, incluyendo los resultados, discusiones, conclusiones, recomendaciones, y las publicaciones científicas derivadas de la misma.

2. Marco Teórico

Las *pruebas de toxicidad* son experimentos conducidos en diversos sistemas de estudio (p. ej., *in chemico*, *in vitro*, *in vivo*) con el fin de caracterizar o de predecir la toxicidad de una sustancia sobre determinados seres vivos [22]. En tal sentido, el *bioensayo de carcinogénesis en roedores a 2-años* (RCB) es una prueba de toxicidad orientada a la salud humana [8,9]. Para la mayoría de los tipos de sustancias a las que aplica, el RCB se conduce en ratas y en ratones [7-9]. En el RCB, la *sustancia de prueba* suele suministrarse a los roedores mediante la ruta de tratamiento más representativa de la exposición humana a dicho agente. En el RCB, la exposición diaria de los animales a las *sustancias de prueba* tiene una duración predeterminada, a saber: **(1)** 24 meses en el caso de la rata, y **(2)** 18 meses en el caso del ratón [7-9]. A los animales que van muriendo a lo largo de los 2 años de exposición, como aquellos que sobreviven hasta el final del estudio, se les aplica una examinación veterinaria *post-mortem* exhaustiva, incluyendo la examinación histopatológica de un amplio rango de órganos y tejidos.

El objetivo de dicha examinación histopatológica es cuantificar la presencia, y, por tanto, registrar los posibles cambios en la *incidencia* de tumores benignos o malignos [7-9]. La detección, clasificación, y cuantificación de los tumores debe ser realizada por un patólogo veterinario con pericia en oncología de roedores de laboratorio [13]. Para el RCB, las condiciones de **(1)** alojamiento; **(2)** tratamiento médico, y **(3)** exposición de los roedores a la *sustancia de prueba*, son condiciones que siguen una estandarización internacional. La finalidad de dichas

condiciones estandarizadas es: evitar la potencial interferencia de *factores de confusión* (p. ej., la co-exposición accidental de los roedores a otras sustancias oncogénicas) en los resultados observados, si los animales expuestos a la *sustancia de prueba* presentan una mayor incidencia de tumores que el *grupo control negativo concurrente*. Los principales resultados reportados en los RCBs son **(1)** la *incidencia de tumores* (en cada grupo de estudio, la *incidencia de tumores* es la proporción de animales con un tipo particular de tumor), y **(2)** el *período de latencia* (a saber, el tiempo promedio que transcurre desde que inicia la exposición del animal a la *sustancia de prueba*, hasta que se detecta un tipo particular de tumor en dicho roedor) [7-9]. Por cada especie roedora (p. ej., la rata), el actual diseño del RCB contempla **(1)** un mínimo de cuatro grupos de estudio por cada sexo (es decir, un grupo *control negativo concurrente* y tres grupos expuestos a tres dosis diferentes de la *sustancia de prueba*), y **(2)** un mínimo de 50 roedores, en cada uno de esos ocho grupos de estudio (por cada especie).

Los datos reportados en los RCBs son analizados mediante las pruebas estadísticas recomendadas para este bioensayo por estadísticos expertos [23,24]. Gracias al avance de la *farmacología básica* y de la *toxicología mecanicista*, se desarrollaron optimizaciones para interpretar los resultados del RCB, basado en lo que hoy se conoce como *datos mecanicistas*. Lo anterior abarca la toma de decisiones gubernamentales que, basadas en la farmacología básica (o toxicología mecanicista) de la *sustancia de prueba*, evaluarán la pertinencia (o irrelevancia) respecto de la salud humana, de los resultados entregados por el RCB para esa sustancia [25-27]. En las regulaciones de diversos países, el RCB es un requisito preclínico necesario para aprobar la comercialización (y regular los usos) de diversas sustancias, incluyendo los *principios activos* y *excipientes* de medicamentos para uso crónico en humanos [21,28].

El RCB ha venido aplicando también en la aprobación y regulación de **(1)** los fármacos para uso en animales productores de alimentos para el consumo humano [29]; **(2)** los ingredientes activos de productos pesticidas [30]; **(3)** algunos aditivos alimentarios [31], y **(4)** algunas sustancias de contacto con los alimentos (p. ej., los químicos que podrían fugar desde los empaques hacia los alimentos pre-empacados) [32]. El RCB también ha servido de apoyo en la *gestión del riesgo* de cáncer humano probablemente impuesto por varias de las sustancias que han resultado carcinogénicas en el RCB. Por ejemplo, algunos *niveles límite de exposición permisibles* (p. ej., ADI; TWA; RfD) y, por consiguiente, varios *niveles máximos de contenido* (p. ej., el *contenido máximo de un colorante alimentario que se permite en determinados productos*), son aplicaciones que se han establecido basado en los resultados cuantitativos proporcionados por el RCB [12,33,34]. Así, el RCB ha apoyado la *gestión del riesgo* de neoplasia humana probablemente impuesto por **(1)** contaminantes químicos del agua potable; **(2)** residuos de *drogas pesticidas* (es decir, los ingredientes activos de los productos plaguicidas) en alimentos cosechados para el consumo humano, y **(3)** por ciertos toxicantes presentes en ambientes laborales u ocupacionales [12,33,34].

Con más de 40 años de historia, y con un papel relevante en la farmacología y toxicología reguladora, la literatura muestra varios intentos por dilucidar el desempeño predictivo del RCB, como método para la anticipación preclínica de los peligros químicos de cáncer humano. Según una revisión del tópico presentada en el Proyecto de Tesis que originó esta tesis doctoral, el más antiguo de esos intentos data de 1986, mientras que el más reciente data del año 2003 [35-40]. En la opinión científica del presente autor, esos trabajos no dieron respuesta a las preguntas de investigación abordadas por esta tesis; por ejemplo, debido a ciertas deficiencias metodológicas (previamente explicadas en dicho Proyecto de Tesis), y porque se basaron en un conocimiento que, ahora, resulta francamente desactualizado para estimar el *desempeño predictivo* del RCB [35-40]. Dicha

opinión científica habría sido respaldada por la publicación en revistas toxicológicas de relevancia internacional, y en calidad de *artículos de investigación* (o *artículos originales*), de los resultados y conclusiones de esta tesis acerca del desempeño predictivo del RCB [41,42]. En ese sentido, la historia sugiere que el RCB fue incorporado en la práctica reguladora en ausencia de una validación formal [43]. Presuntamente, una validación formal (como las que ahora son rutina en toxicología reguladora) no se realizó antes de otorgar rango reglamentario al RCB debido a **(1)** la necesidad urgente por implementar más *pruebas de toxicidad* (p. ej., a raíz de la “tragedia de la talidomida”); **(2)** el muy escaso número de sustancias *carcinogénicas para los humanos* conocidas para la época (p. ej., conocidas mediante epidemiología analítica), desde las cuales estimar la *sensibilidad* del RCB, y **(3)** por la ausencia de un marco conceptual claro para evaluar el *desempeño predictivo* de las pruebas de toxicidad. Revisaremos ahora el concepto toxicológico conocido como la *identificación de peligros*.

En toxicología, el término *peligro* menciona la habilidad innata (o connatural) mediante la cual algunas sustancias pueden causar efectos perjudiciales para la salud o la vida [12]. El término *riesgo* menciona la probabilidad de que, bajo condiciones específicas de *exposición* a un determinado *peligro*, se presente una respuesta biológica adversa en un organismo (p. ej., una enfermedad; la muerte) [12]. Entonces, la *identificación de peligros* consiste en detectar la habilidad connatural de algunas sustancias de causar efectos adversos sobre la salud, la reproducción, o la vida de una o más especies biológicas [12]. La *identificación de peligros* es el primer paso de un proceso conocido como la *evaluación del riesgo* [12]. En toxicología, la *evaluación del riesgo* permite caracterizar **(1)** el *peligro* de; **(2)** las condiciones de *exposición* a, y **(3)** el *riesgo* de respuestas tóxicas impuesto por un determinado peligro bajo esas condiciones particulares de exposición [12].

En términos matemáticos simples, el *riesgo tóxico* es producto de la combinación ponderada de: **(1)** el *tamaño del peligro* (a saber, que tan efectiva es la sustancia causando la respuesta tóxica), y **(2)** de la *magnitud de la exposición* (p. ej., la dosis, la duración de la exposición). Lo anterior es central para interpretar y gestionar correctamente el riesgo tóxico impuesto por algunas sustancias, incluyendo la consideración que se pueda dar a las predicciones de *carcinogenicidad innata para los humanos*, entregadas por el RCB para diversas sustancias específicas que resultaron ser carcinogénicas en este bioensayo. En tal sentido, permítame resaltar que esta tesis investigó al RCB únicamente como: ***método preclínico para la identificación de los peligros químicos de cáncer humano*** [41-43]. Por otra parte, con *oncogenicidad* o *carcinogenicidad*, nos referimos a la habilidad connatural de algunas sustancias de incrementar significativamente la probabilidad de neoplasia o cáncer, respectivamente, en las personas expuestas a (o tratadas con) dichas sustancias.

Es importante resaltar que la neoplasia benigna o el cáncer, como desenlaces distintos, acontecerían sólo en condiciones de exposición lo *suficientemente riesgosas* a una sustancia que es innatamente carcinogénica para los humanos. Acerca de las *pruebas predictivas de las acciones farmacológicas de las sustancias* (alternativamente, *pruebas predictivas de las toxicidades de las sustancias*), se considera que los elementos que mejor describen el desempeño predictivo de tales pruebas son la *sensibilidad* y la *especificidad* [44,52]. En tal sentido, la *sensibilidad* (SEN) de una prueba preclínica indica su grado de habilidad para *responder* (*detectar*, o *identificar*) a las sustancias que, según el respectivo estándar de oro, poseen una determinada habilidad o propiedad (p. ej., una habilidad farmacológica; una propiedad toxicológica) [44,52]. Por su parte, la *especificidad* (SPEC) de un bioensayo preclínico indica su grado de habilidad en *ignorar* (es decir, de *no-responder*) a las sustancias que, según el respectivo estándar de oro, carecen de una determinada habilidad o propiedad [44,52]. De una *prueba de toxicidad* de rango reglamentario, se espera que puedan tomarse decisiones confiables

basadas en los resultados de dicho bioensayo (p. ej., establecer regulaciones basadas en los resultados de la prueba preclínica). Al respecto, el *valor predictivo positivo* (VPP) hace referencia a: « la probabilidad numérica de que el resultado positivo entregado por un bioensayo preclínico para una determinada sustancia, en efecto, concuerde con el resultado de esa sustancia en el respectivo *estándar de referencia* » [44,52]. Por su parte, el *valor predictivo negativo* (VPN) menciona: « la probabilidad cuantitativa de que el resultado negativo proporcionado por un bioensayo preclínico para una determinada sustancia, efectivamente, coincida con el resultado de ese agente químico en el correspondiente *estándar de referencia* » [44,52].

Si se somete una sustancia a una *prueba predictiva de la toxicidad*, típicamente, es porque se desconocen los resultados de esa sustancia en el *estándar de referencia* o *estándar de oro* (los cuales, suelen ser mucho más costosos, laboriosos, o prolongados que el bioensayo preclínico en cuestión) [44]. Con *estándar de referencia*, nos referimos a **(1)** el método simulado por el bioensayo preclínico que estamos usando para predecir la toxicidad de una sustancia, o **(2)** al método cuyos resultados buscamos predecir mediante el uso de un bioensayo preclínico. En cambio, por *estándar de oro*, se entiende: el método más aceptado por los expertos como la mejor técnica para *examinar, diagnosticar, o medir* un fenómeno [44]. Mientras que todos los *estándares de oro* podrían actuar como *estándares de referencia*, no todos los *estándares de referencia* pueden ser *estándares de oro*.

3. Problema de investigación

El *bioensayo de carcinogénesis en roedores a 2-años* (RCB) es una prueba de toxicidad vigente. Desde hace 40 años, aproximadamente, los resultados del RCB son requeridos para la comercialización y regulación de varios tipos de sustancias, según las regulaciones de varios países con distintos niveles de desarrollo. Paradójicamente, el desempeño predictivo del RCB aún no se conoce con claridad [14,15]. Como resultado de ese desconocimiento, y como consecuencia de algunas limitaciones que la *farmacología básica* y la *toxicología mecanicista* identificaron en la capacidad predictiva del RCB [25-27], algunos autores plantearon que el RCB sería inválido, inútil, o innecesario [14,15]. Tener vigente un bioensayo preclínico de alcance reglamentario, en calidad de *estándar de oro preclínico*, pero del que se desconoce y desconfía de su capacidad predictiva, representa un problema para la sociedad. Así, el primer problema identificado por el *proyecto de tesis* que dio origen a esta tesis doctoral, fue: « el desconocimiento que hay sobre la capacidad predictiva del RCB, específicamente, como método preclínico para identificar los peligros químicos de cáncer humano. »

En el respectivo *proyecto de tesis*, el segundo problema identificado fue: « el desconocimiento que hay sobre la probabilidad cuantitativa según la cual, aquellas sustancias que resultan ser oncogénicas (alternativamente, no-oncogénicas) en el RCB, efectivamente tendrían (alternativamente, carecerían de) carcinogenicidad innata para los humanos (esto es, una probabilidad numérica por cada sustancia específica que resultó carcinogénica o no-carcinogénica en el RCB) ». Al respecto, la literatura muestra que más de 700 sustancias han sido ensayadas en el RCB, incluyendo más de 287 ingredientes activos de medicamentos (o *fármacos*) [43,45-47]. Sin embargo, a nivel mundial, la plausibilidad del peligro de cáncer que representarían para los humanos aquellas sustancias que resultan carcinogénicas en el RCB, es algo que sólo se comunica mediante probabilidades cualitativas (p. ej., *el agente X es posiblemente carcinogénico para los humanos; la sustancia Z es probablemente carcinogénica para los humanos*) [1-3]. Inevitablemente, lo anterior cae en el campo de la arbitrariedad, lo que

genera cierta controversia (p. ej., *¿cuál categoría de probabilidad cualitativa elegir para cada sustancia, y, ¿qué título o nombre colocar a dichas categorías de probabilidad cualitativa?*) [48]. De hecho, varios fármacos resultaron carcinogénicos en el RCB y, sin embargo, se encuentran en comercialización para indicaciones de la medicina humana que podrían no justificar los riesgos de neoplasia si, efectivamente, esos fármacos fuesen innatamente carcinogénicos para los humanos. Dos ejemplos de fármacos comercializados en múltiples países bajo la figura de *venta libre* son: loratadina (CASRN® 79794-75-5), y cetirizina (CASRN® 83881-51-0). Tanto *loratadina* como *cetirizina* incrementaron la incidencia de tumores hepáticos en el RCB de 2-especies (es decir, tanto en ratas como en ratones) [49,50]. Tras reportar la hepato-carcinogénesis causada en el RCB por la loratadina y la cetirizina, la *información de prescripción* aprobada por la U.S. FDA para esos fármacos indica que:

“Se desconoce la significación clínica de esos hallazgos (a saber, la hepato-carcinogénesis causada en el RCB por la loratadina o cetirizina) durante el uso a largo plazo de la loratadina o cetirizina en humanos” [49,50]. La hipotética identificación la *loratadina* o *cetirizina* como peligros de cáncer para los humanos (p. ej., basado en los resultados del RCB), en sí mismo, no arrojaría luz sobre: *¿Cuál es el incremento numeral en el riesgo de cáncer humano impuesto por la automedicación crónica con loratadina o cetirizina?* No obstante, en ausencia de conocimiento epidemiológico sobre la potencial carcinogenicidad para los humanos de la cetirizina y loratadina, conocer la probabilidad numérica de *carcinogenicidad innata para los humanos* de esos fármacos (p. ej., basado en los resultados del RCB), sí podría motivar la realización de *evaluaciones del tipo riesgo-beneficio* por parte de los reguladores. Dependiendo de sus resultados, los *estudios de riesgo-beneficio* sí podrían promover cambios en las indicaciones, o en la modalidad de venta de la cetirizina y loratadina.

En su defecto, la identificación inequívoca de algunas sustancias como peligros de cáncer humano (p. ej., basada en los resultados del RCB), sí podría fomentar la abstención voluntaria de **(1)** la prescripción médica o farmacéutica, o **(2)** de la automedicación con fármacos carcinogénicos en el RCB, específicamente, en los casos de innecesaria o injustificada medicación. Los *problemas de investigación* abordados por esta tesis pueden entonces resumirse así: **(1)** el desconocimiento que hay sobre la habilidad del RCB para predecir cuales sustancias son peligros químicos de cáncer humano, y cuales no; **(2)** el desconocimiento que hay sobre la *~probabilidad numérica de carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos~*, de fármacos específicos y otras sustancias particulares que ya fueron ensayadas en el RCB, de las que no hay certeza epidemiológica acerca de su *carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos*.

4. Justificación

En secciones anteriores, se describió el rol y alcance del RCB en la farmacología y toxicología reguladora. La participación del RCB en la práctica reguladora es tal, que sólo eso podría justificar la realización de investigaciones dirigidas a solucionar los problemas planteados en el capítulo anterior. Sin embargo, permítanos revisar otros aspectos que podrían dar más explicación sobre la justificación de esta tesis. En la sociedad, una parte de la prevención primaria del *cáncer inducido por sustancias* se ha basado en la capacidad predictiva del RCB. Por tanto, habría una deuda histórica de responder a la siguiente pregunta: *¿Durante estos 40 años, fue adecuado usar al RCB como estándar preclínico para predecir la carcinogenicidad innata de las sustancias para los humanos?* Además, hasta la fecha, más 700 sustancias han sido ensayadas en el RCB [43,45-47]. Por ello,

hay el compromiso moral de responder a preguntas tales como: *¿Se justificaron los más de 500.000 roedores sometidos a experimentación animal, y los más de 900 millones de dólares estadounidenses (USD) empleados hasta ahora en los RCBs?* En tal sentido, se puede contextualizar que cerca de la mitad de ese dinero (específicamente, el costo de los RCBs realizados en institutos públicos de investigación) fue pagado por los contribuyentes vía impuestos, mientras que la otra mitad (particularmente, aquella que formó parte del costo de desarrollo de nuevos medicamentos), pudo elevar el precio de varios medicamentos patentados.

Lo anterior brindaría adicional justificación a esta tesis porque: resulta muy difícil dar respuestas objetivas a esas preguntas sin conocer primero cuál es el *desempeño predictivo* del RCB. El segundo justificativo tendría que ver con una prominente corriente que hay actualmente en farmacología y toxicología preclínica, así como en farmacología y toxicología reguladora, encaminada a reemplazar y discontinuar cuanto antes al RCB. Como consecuencia inevitable y deseable del avance de la ciencia y la tecnología, ciertamente, el RCB será reemplazado eventualmente. Sin embargo, los métodos propuestos hasta ahora como reemplazo del RCB tienen validez porque, para una alta proporción de las sustancias en las que se basó su validación, estos entregaron resultados concordantes con los del RCB. De hecho, algunos de los métodos alternativos plantean al RCB como *último recurso* (es decir, algunos de los métodos alternativos recomiendan la conducción de RCBs cuando el *marco de referencia* falla en entregar una respuesta razonablemente predictiva sobre la carcinogenicidad para los humanos de la sustancia en cuestión) [10,11,17-19].

Entonces, por ahora, los métodos alternativos al RCB: « se basan completa o parcialmente en la *capacidad predictiva* del propio RCB ». Como resultado, mientras se desconozca la capacidad predictiva del RCB, y considerando que el método *alternativo X* se validó por su alta concordancia con los resultados del propio RCB, el reemplazo del RCB por el *método alternativo X* levantaría los siguientes cuestionamientos: **(1)** *¿Es realmente adecuado usar al método alternativo X como estándar preclínico para predecir la carcinogenicidad innata de las sustancias para los humanos?* **(2)** *Exactamente (p. ej., en términos porcentuales), ¿Es la capacidad del método alternativo X lo suficiente como para anticipar la carcinogenicidad innata de las sustancias para los humanos?*

5. Preguntas de investigación

Como método preclínico para identificar los peligros químicos de cáncer humano,

- (1) *¿Cuál es la capacidad predictiva del RCB respecto de los carcinógenos de humanos?*
- (2) *¿Cuál es la probabilidad numérica de carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos de ciertos fármacos, y de otras sustancias específicas ya ensayadas en el RCB?*

6. Hipótesis de trabajo

- (1) La composición química, la estructura, y los mecanismos de reparación del ADN son compartidos entre los mamíferos. Por ende, el *desempeño predictivo* del RCB respecto de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* debería ser alto (p. ej., > 90%). La magnitud exacta de ese *desempeño predictivo* dependería

de las diferencias metabólicas que hay entre humanos y roedores en relación con **(1)** la activación de *pro-carcinógenos*, y **(2)** la detoxificación de *mutágenos de acción directa*.

- (2) Entre los mamíferos, los *mecanismos de acción carcinogénica de tipo no-mutagénico* son diversos. De hecho, algunos de esos mecanismos pasan por vías fisiológicas (o patológicas) que son disímiles entre humanos y roedores. Al respecto, se ha reportado hasta 25% de disimilitud entre humanos y roedores en términos del *ADN codificante de proteínas* [51]. Presumiblemente, varias proteínas pertenecientes a ese 25% de *disimilitud* serían las responsables de los *mecanismos de acción carcinogénica de tipo no-mutagénico* que operan solamente en humanos, o únicamente en roedores. « Por consiguiente, respecto de los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, el *desempeño predictivo* del RCB **(1)** estaría alrededor de 75%, e incluso **(2)** podría ser insuficiente (p. ej., un *desempeño predictivo* < 70%). »
- (3) Considerando las dos hipótesis anteriores, como resultado, se puede hipotetizar que: « El RCB presentaría un *desempeño predictivo* significativamente diferente para con los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, en comparación con los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*. »
- (4) Teniendo en cuenta las diferencias histológicas, farmacocinéticas, y patológicas que hay entre el sistema respiratorio y el sistema gastro-intestinal, y, considerando que la composición, estructura, y la reparación del ADN es compartida entre los sistemas respiratorio y gastro-intestinal, se puede entonces hipotetizar que: « Respecto de los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, la vía oral del RCB ofrecería un *desempeño predictivo* distinto al ofrecido por la vía inhalatoria del RCB. »
- (5) Hasta 8% de disimilitud se ha reportado entre ratas y ratones en términos de *ADN codificante de proteínas* [51]. Presumiblemente, algunas de las proteínas pertenecientes a ese 8% de *disimilitud* participarían en la *iniciación, promoción, o progresión* de la oncogénesis química en estas especies. « Por tanto, y aunque por una diferencia relativamente pequeña (p. ej., < 15%), el -RCB de 2-especies- ofrecería un mejor *desempeño predictivo* comparado con los -RCBs de 1-especie- (p. ej., el RCB-rata; el RCB-ratón). »

7. Objetivos generales (o direccionales)

- (1) Evaluar el grado de validez del *bioensayo de carcinogénesis en roedores a 2-años* (RCB), como método para pronosticar los peligros químicos de cáncer humano (es decir, como método preclínico para predecir la *carcinogenicidad innata** de las sustancias para los humanos).
- (2) Estimar la probabilidad numérica de que los resultados entregados por el RCB para un grupo de fármacos o sustancias específicas, en materia de *carcinogenicidad innata**, concuerden con la realidad clínica en humanos de las mismas.

* Carcinogenicidad innata: En condiciones de exposición lo suficientemente riesgosas, la habilidad de algunas sustancias de incrementar el riesgo de cáncer en los organismos expuestos a, o tratados con dichas sustancias.

8. Objetivos específicos

Como método preclínico para predecir los peligros químicos de cáncer humano, y, según la habilidad de los *bioensayos preclínicos* de entregar resultados que concuerden con los desenlaces en el *estándar de oro clínico*:

(1) Evaluar la *sensibilidad* (o *tasa de verdaderos positivos*) del RCB.

(2) Evaluar la *especificidad* (o *tasa de verdaderos negativos*) del RCB.

Desde los resultados entregados por el RCB para sustancias específicas,

(3) Estimar la probabilidad cuantitativa de *carcinogenicidad innata para los humanos* de (1) varios fármacos de la medicina humana; (2) de algunas drogas (o principios activos) de interés para la medicina humana o veterinaria, y (3) de algunas otras sustancias de interés toxicológico. [Lo anterior incluyó sólo a fármacos, drogas, y otras sustancias específicas con resultados de *carcinogénesis química* en el RCB].

(4) Estimar la probabilidad numérica de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de (1) algunos fármacos de la medicina humana o veterinaria; (2) de algunas drogas pesticidas (es decir, ingredientes activos de productos plaguicidas), y (3) de algunos colorantes autorizados en distintos países para uso en alimentos, medicamentos, y cosméticos. [Lo anterior abarcó sólo a fármacos, drogas, y otras sustancias específicas con resultados de *ausencia de carcinogénesis química* en el RCB].

9. Metodología - Parte 1 (Objetivos Específicos #1 y #2)

9.1. Tipo de investigación y su justificación

Realizamos una **investigación teórica** para encontrar respuesta a las preguntas de investigación, y cumplir así con los objetivos específicos de la tesis. No realizamos estudios directos sobre personas, ni empleamos métodos experimentales en animales, sistemas *in vitro*, o sistemas *in chemico*. La metodología de esta tesis se basó en el análisis de datos y resultados, ya sea observacionales o experimentales, que están publicados en la literatura. En particular, analizamos datos y resultados que fueron generados por sus respectivos autores mediante (1) la examinación clínica y el análisis epidemiológico de personas; (2) el uso de animales de laboratorio, o (3) mediante sistemas *in vitro*. Las especificaciones de los métodos aplicados por esta tesis se describen en las próximas secciones de la metodología (secciones de la 9.3 a la 10.3). Ahora bien, habría dos justificativos para responder a las preguntas de investigación de esta tesis mediante una investigación teórica. Primero, para un determinado *bioensayo preclínico*, la confiabilidad de su *capacidad predictiva* depende del número de sustancias en las que se basa la evaluación de su *desempeño predictivo* [44]. En modo teórico, esta tesis evaluó el *desempeño predictivo* del RCB basado en 186 sustancias (es decir, 186 sustancias con resultados disponibles tanto en el RCB como en su *estándar de referencia* clínico). Al respecto, los criterios de inclusión para las sustancias en las

que esta tesis basó su estimación del *desempeño predictivo* del RCB, se explican en las [secciones –9.3.2–](#), [–9.3.3–](#), [–9.4.2–](#), y [–9.4.3–](#). Ahora, de vuelta a la justificación de haber conducido esta tesis en modo teórico. Como el ensayo de una sola sustancia en el RCB **(1)** cuesta alrededor de dos millones de dólares estadounidenses (USD), y **(2)** toma hasta 2 años de experimentación [12], evaluar el desempeño predictivo del RCB mediante el ensayo de 186 nuevas sustancias **(3)** habría costado cerca de USD 372 millones, y **(4)** habría implicado 372 años de trabajo efectivo (o trabajo concurrente). En cambio, investigar la capacidad predictiva del RCB mediante una investigación teórica basada en 182 sustancias que ya fueron ensayadas en el RCB, evitó incurrir en tales costos que son inviables para cualquier tesis doctoral del mundo.

Además, en una tesis doctoral de tipo experimental, el número de sustancias ensayadas en el RCB sería insuficiente para alcanzar una evaluación razonablemente acertada sobre el desempeño predictivo del RCB. Al contrario, una estimación basada en 186 sustancias sí cuenta con un buen nivel de confiabilidad, por ejemplo, ante los reguladores de los tipos de sustancias para las que el RCB ha venido aplicando. Segundo; a juzgar por los 594 RCBs conducidos (o financiados) por el U.S. NTP [47], sólo en los Estados Unidos de América (EUA): **(1)** más de USD *mil millones* (pagados por los contribuyentes de ese país) habrían sido gastados en RCBs, y **(2)** más de 250.000 roedores habrían sido sometidos a experimentación animal en ocasión del RCB.

Si incluimos los RCBs conducidos por instituciones públicas fuera de los EUA, así como los RCBs conducidos por la industria química/farmacéutica mundial, tanto el dinero gastado como la cantidad de roedores utilizados en el RCB duplicaría las cifras revisadas anteriormente en el caso del U.S. NTP. Por lo tanto, más de USD *2 mil millones* (pagados por los contribuyentes de distintos países del mundo), y más de 500.000 roedores (sometidos a experimentación química) han sido empleados en los RCBs. En vez de incurrir en más gasto público y mayor experimentación animal para investigar la capacidad predictiva del RCB, los resultados de esta tesis teórica podrían dar luces acerca de la posible justificación (o falta de justificación) del gigantesco y controversial gasto, históricamente acometido por la industria y los gobiernos en ocasión de los RCBs.

9.2. Materiales bibliográficos y fuentes de información

Los resultados de esta tesis derivan del análisis de datos que se encuentran publicados en la literatura. Los datos analizados en esta tesis fueron producidos por los respectivos autores de la literatura mediante **(1)** investigaciones epidemiológicas; **(2)** experimentación en animales, o **(3)** mediante experimentación *in vitro*. Para reconocer los datos o resultados de una determinada sustancia en estudios específicos (p. ej., en estudios de toxicoepidemiología; en el RCB; en pruebas de genotoxicidad), esta tesis analizó los materiales bibliográficos descritos en la [Tabla 1](#). Por su parte, la [Tabla 2](#) especifica las fuentes de información, y los motores de búsqueda que fueron consultados aquí para encontrar los materiales bibliográficos descritos en la [Tabla 1](#). En el caso de los motores de búsqueda, empleamos ecuaciones (de búsqueda) basadas en las palabras claves del inglés más relacionadas con el material a encontrar (p. ej., *keywords*; MeSH). Por ejemplo: “*nombre de la sustancia* (p. ej., *cyclophosphamide*)” AND “*nombre de la propiedad toxicológica o respuesta tóxica de interés* (p. ej., *mutagenicity*; *mutagenesis*)” AND “*tipo de estudio de interés* (p. ej., *in vitro*; *Ames test*; *rodent carcinogenesis*).”

Tabla 1. Materiales bibliográficos examinados en esta tesis como fuente de datos experimentales

Artículos de investigación (o artículos originales) de revistas científicas indexadas.
Artículos de revisión (<i>review article</i>) de revistas científicas, que describieron los datos o resultados de RCBs.
Reportes técnicos publicados por instituciones internacionalmente reconocidas, que condujeron o patrocinaron RCBs (p. ej., el U.S. NTP).
La <i>información de prescripción</i> de medicamentos específicos, autorizada por la U.S. FDA.
Monografías, revisiones, y otros documentos publicados por instituciones internacionales especializadas en la toxicología de las sustancias (p. ej., Monografías IARC; Revisiones toxicológicas de la U.S. EPA; Perfiles toxicológicos de la U.S. ATSDR).
Evaluaciones toxicológicas de instituciones encargadas de autorizar usos específicos para las sustancias químicas (p. ej., Monografías del FAO/WHO JECFA; Evaluaciones de la FAO/WHO JMPR; Opiniones científicas de los comités toxicológicos de la Comisión Europea).
Los resultados reportados en bases de datos generalmente reconocidas como fuentes válidas (o expertas) de información toxicológica (p. ej., HSDB; CEBS; CCRIS; EURL ECVAM).

9.3. Evaluación de la sensibilidad del RCB

9.3.1. Cálculo

Para un determinado bioensayo preclínico, la *sensibilidad* (SEN) menciona su grado de habilidad para responder (o detectar) a las sustancias que tienen una determinada habilidad o propiedad (p. ej., una habilidad farmacológica), según lo establecido por el respectivo *estándar de referencia* (es decir, según lo establecido por el método simulado por el bioensayo en cuestión), [4,44,52]. Desde un conjunto de sustancias previamente ensayadas tanto en la *prueba preclínica* como en su *estándar de referencia*, la sensibilidad (SEN) se calcula como: « La proporción de sustancias positivas al bioensayo preclínico en el total de sustancias positivas al respectivo *estándar de referencia* » [4,44,52]. En tal sentido, lo anterior es un ejercicio común en farmacología translacional y toxicología predictiva [44,53,54]. Por ejemplo, Suarez-Torres y col. [55] analizaron las bases del cálculo corriente de la SEN, según lo explicado a continuación. La SEN de una prueba preclínica puede plantearse en términos probabilísticos con preguntas como: «¿Cuál es la probabilidad de que el bioensayo predictivo entregue un resultado positivo **dado** que la *sustancia de prueba* es positiva al estándar de referencia?»

Según la definición de probabilidad en términos de *frecuencia relativa* [56], Suarez-Torres y col. [55] plantearon que, la pregunta mencionada arriba, puede plantearse en términos de *probabilidad condicional* (como se muestra en la *Ecuación #1*). En la *Ecuación #1*, (1) el término $P(\text{BIOASSAY+} \mid \text{RS+})$ expresa: la probabilidad de que la prueba preclínica entregue un resultado positivo *toda vez* que la sustancia sometida a la misma es positiva al estándar de referencia; (2) el término $n(\text{BIOASSAY+} \cap \text{RS+})$ representa el número de sustancias positivas al estándar de referencia que, a su vez, resultaron positivas en la prueba preclínica, y (3) el término $n\text{RS+}$ representa el número total de *sustancias positivas al estándar de referencia* con resultados disponibles en el bioensayo preclínico. Ergo, el término $n\text{RS+}$ incluye a los *verdaderos positivos* y a los *falsos negativos* que la prueba preclínica ha entregado para las sustancias que son positivas al estándar de referencia (Figura 1).

Tabla 2. Fuentes de información, y motores de búsqueda, consultados en esta tesis para conocer los datos o resultados de determinadas sustancias en el RCB

<i>IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans.</i> [57]	<i>EURL ECVAM Genotoxicity and Carcinogenicity Consolidated Database.</i> [65]
<i>U.S. EPA IRIS Assessments.</i> [58]	<i>Lhasa Carcinogenicity Database.</i> [66]
<i>U.S. NTP 14th Report on Carcinogens.</i> [59]	<i>U.S. FDA Prescribing Information (or Labels).</i> [67].
<i>U.S. NLM - Hazardous Substances Data Bank (HSDB).</i> [60]	<i>U.S. FDA Approval Package – Pharmacology Review.</i> [67]
<i>FAO/WHO JECFA Monographs & Evaluations.</i> [61]	<i>Testing status at the U.S. NTP (search engine).</i> [68]
<i>U.S. NLM - Chemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS).</i> [62]	<i>Carcinogenic Potency Database (CPDB).</i> [69]
<i>U.S. NLM - Genetic Toxicology Data Bank (GENETOX).</i> [63]	<i>ToxPlanet™.</i> [70]
<i>U.S. NTP - Chemical Effects in Biological Systems (CEBS).</i> [64]	<i>U.S. NLM PubMed (search engine); Google Scholar (search engine).</i>

Ahora bien, en la medida que el bioensayo preclínico tenga mayor *sensibilidad* (SEN), mayor será la probabilidad expresada por el término **P(BIOASSAY+ | RS+)**, y viceversa. Por tanto, el término **P(BIOASSAY+ | RS+)** es sustituible por (o intercambiable con) la expresión **SEN**, dando lugar al cálculo típico de la SEN (*Ecuación #2*). En la *Ecuación #2*, el símbolo matemático (\equiv) significa «equivalente a».

$$P(\text{BIOASSAY} + | \text{RS} +) \approx \frac{n(\text{BIOASSAY} + \cap \text{RS} +)}{n\text{RS} +} \quad (1)$$

$$\text{SEN} \equiv P(\text{BIOASSAY} + | \text{RS} +) \approx \frac{n(\text{BIOASSAY} + \cap \text{RS} +)}{n\text{RS} +} = \frac{\text{verdaderos positivos}}{\text{verdaderos positivos} + \text{falsos negativos}} \times 100\% \quad (2)$$

9.3.2. Reconocimiento de las sustancias positivas al estándar de referencia

En esta tesis, la SEN del RCB se calculó como: « el porcentaje de sustancias positivas al RCB dentro del conjunto de sustancias positivas al estándar de referencia simulado por el RCB » (*Ecuación #2*) [41,43]. En el tópico de la *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias, generalmente, se reconoce a la epidemiología analítica como el estándar de oro clínico [1-3]. Por tanto, se sobreentiende que **(1)** el RCB simula a la epidemiología analítica, y que **(2)** el RCB busca predecir los resultados entregados por la epidemiología analítica, respecto de la posible *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias. Para reunir el mayor número posible de sustancias positivas (o carcinogénicas) en el estándar de referencia simulado por el RCB, esta tesis realizó una revisión exhaustiva de **(1)** las Monografías de la IARC (la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer) [1]; **(2)** las Evaluaciones del U.S. EPA IRIS (el Sistema Integrado de Información de Riesgos, de la Agencia de Protección Ambiental de los EUA) [2], y **(3)** del Reporte de Carcinógenos del U.S. NTP (el Programa Nacional de Toxicología de los EUA) [3]. Como sustancias que son positivas al estándar de referencia del RCB, esta tesis reconoció sólo aquellas que, según la IARC, la U.S. EPA, o el U.S. NTP, son sustancias que cuentan

con: « *suficiente* evidencia epidemiológica de carcinogenicidad en humanos » [1-3]. A su vez, los epidemiólogos de esas instituciones reconocen que hay *suficiente evidencia de carcinogénesis química en humanos*, cuando el *peso de la evidencia* epidemiológica señala una *causalidad* entre **(1)** la exposición a (o el tratamiento con) la sustancia, y **(2)** uno o más tipos de cáncer humano [1-3]. Para reconocer un *peso de la evidencia* de tal magnitud, los epidemiólogos de dichas instituciones aplican el estado del arte en epidemiología, descartando así la potencial interferencia del **(1)** *azar*; **(2)** de los *factores de confusión*, y **(3)** de los *sesgos*, sobre el incremento en la incidencia de cáncer humano observado tras la exposición a la sustancia en cuestión.

En ese sentido, para evaluar el peso de la evidencia epidemiológica acerca de la *carcinogenicidad para los humanos* de una sustancia, los epidemiólogos de esas instituciones examinan los siguientes tipos de estudios: **(1)** estudios prospectivos (t.c.c., estudios de cohortes); **(2)** estudios de casos y controles (t.c.c., estudios retrospectivos); **(3)** ensayos clínicos aleatorizados, en el caso de los fármacos investigativos, y **(4)** estudios ecológicos [1-3]. Al respecto, las Tablas A1 y A4 – A6 (sección 17: Anexo A) muestran los distintos fármacos, drogas, y otras sustancias que esta tesis reconoció como positivas al estándar de oro del RCB (en adelante, sustancias mencionadas aquí como *carcinógenos de humanos*). Las Tablas A4 y A5 muestran cómo los resultados de los distintos *carcinógenos de humanos*, fueron incorporados en el cálculo de la SEN del RCB.

9.3.3. Reconocimiento de los resultados de las sustancias en el RCB

Para evaluar la SEN del RCB, primero fue necesario reconocer los resultados que entregó el RCB para aquellas sustancias que son positivas al estándar de referencia simulado por este bioensayo preclínico (es decir, los resultados entregados por el RCB para las sustancias hasta ahora reconocidas como *carcinógenos de humanos*). Para reconocer los resultados entregados por el RCB, es importante recordar que este bioensayo puede ser configurado de tres maneras distintas (entre varias otras configuraciones posibles para el RCB). En el RCB, los resultados de una determinada sustancia pueden ser reconocidos dependiendo de los sexos (a saber, machos o hembras), y de las especies (a saber, ratas o ratones) empleadas en estos bioensayos. Lo anterior da lugar a distintas lecturas (o interpretaciones) de los desenlaces observados en los RCBs. Así, las Figuras 2, 3, y 4 muestran los algoritmos que se aplicaron en esta tesis para reconocer los resultados entregados por el RCB para los **(1)** *carcinógenos de humanos* en los que basamos la evaluación de la SEN del RCB (sección 9.3.2), y los **(2)** *no-carcinógenos de humanos* en los que basamos la evaluación de la SPEC del RCB (sección 9.4.2).

En las Figuras 2, 3, y 4, el término *desenlace* se usó para mencionar el **resultado** de la *sustancia de prueba* en el RCB (p. ej., positivo vs. negativo; *carcinogénesis química* vs. *ausencia de carcinogénesis química*), según los datos reportados por los investigadores que condujeron dichos RCBs. En esas mismas figuras, el término *lectura* (como equivalente de *algoritmo*) se usó para indicar la **interpretación** que, en esta tesis, se dio a los desenlaces de las *sustancias de prueba* en los RCBs. Por ejemplo, una de las posibles lecturas es: « la sustancia X es negativa al (o no-carcinogénica en el) *RCB de 2-especies*, aunque la sustancia X resultó ser (1) carcinogénica en ratones, y (2) no-carcinogénica en ratas (Fig. 4: caso #2 - Config. #1) ». La lectura de los desenlaces comenzó a nivel de los sexos de una determinada especie, como lo explica la Figura 2 para el caso de las sustancias ensayadas en el RCB-rata, o como lo indica la Figura 3 en el caso de las sustancias ensayadas en el RCB-ratón. Según los algoritmos mostrados en las Figuras 2 y 3, un resultado negativo en el RCB-rata (o en el RCB-ratón),

se reconoció aquí sólo si los datos mostraron *ausencia de carcinogénesis química* tanto en las hembras como en los machos de la especie en cuestión. Con *carcinogénesis química*, en el caso de los RCBs, nos referimos a los incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de (uno o más, tipos de) tumores en los grupos (de roedores) expuestos a una *sustancia de prueba*, comparado con el grupo *control negativo concurrente*. Los algoritmos mostrados en las [Figura 2](#) y [Figura 3](#) se basaron en la susceptibilidad diferencial a la carcinogénesis química que, como se sabe, hay entre los machos y las hembras [71]. Por lo anterior, e independientemente del desenlace en el otro sexo, la evidencia de carcinogénesis en cualquiera de los dos sexos se interpretó aquí como un resultado positivo en el RCB-rata (o, alternativamente, en el RCB-ratón). En el RCB-rata, los resultados de las sustancias (ensayadas en ratas) se reconocieron aquí según el algoritmo de la [Figura 2](#).

En el RCB-ratón, los resultados de las sustancias (ensayadas en ratones) se reconocieron aquí siguiendo el algoritmo de la [Figura 3](#). En ese sentido, como configuraciones separadas, el RCB-rata y el RCB-ratón serán mencionados en este manuscrito bajo el término de *RCBs de 1-especie*. Para las sustancias ensayadas tanto en ratas como en ratones, y para las sustancias ensayadas ya sea en ratas o ratones, sus resultados en el *RCB de 2-especies* se reconocieron aquí siguiendo los algoritmos de la [Figura 4](#). Al respecto, los algoritmos de la [Fig. 4](#) consideran dos formas distintas de reconocer los resultados que, aunque son igualmente válidas, no necesariamente serían igual de predictivas. Según la config. #2 del *RCB de 2-especies*, un **resultado negativo** se reconoció sólo si se observó ***ausencia de carcinogénesis química*** tanto en (los dos sexos de las) ratas como en (los dos sexos de los) ratones ([Fig. 4](#)). La config. #2 del RCB de 2-especies se basó en la hipótesis de que ratas y ratones tendrían una sensibilidad parcialmente distinta para responder a los *carcinógenos de humanos*. Si así fuese, para una determinada sustancia, la *ausencia de carcinogénesis* en el RCB-ratón no anularía la relevancia para la salud humana de la carcinogenicidad observada en el RCB-rata (y viceversa).

Según la config. #1 del RCB de 2-especies, un **resultado positivo** se reconoció aquí sólo si se observó ***carcinogénesis química*** tanto en (al menos uno de los sexos de las) ratas como en (al menos uno de los sexos de los) ratones ([Fig. 4](#)). Esta configuración se basó en la hipótesis de otros autores, según la cual los RCBs serían considerablemente propensos a entregar resultados del tipo *falso-positivo*. De ser así (de ser el RCB un método inespecífico), entonces, la carcinogenicidad de una sustancia tanto en ratas como en ratones conllevaría una probabilidad considerablemente menor de tratarse de un *falso-positivo* (y, por extensión, una probabilidad significativamente mayor de tratarse de una sustancia realmente carcinogénica para los humanos). Por otra parte, varios *carcinógenos de humanos* sólo han sido estudiados en *experimentos de carcinogénesis química en roedores* que no cumplieron con las pautas (o características metodológicas) mínimas que hoy día definen al RCB (en adelante, casos referidos con la abreviatura NC-RCB, para mencionar a los *bioensayos de carcinogénesis química en roedores que no cumplieron con las pautas mínimas del RCB actual*) [41].

Sin embargo, en algunos casos, esta tesis observó que los resultados provenientes de los NC-RCBs pueden extrapolarse (o atribuirse) correctamente al RCB, según la base lógica que se presenta a continuación. Mediante fundamentos estadísticos y toxicológicos específicos, Suarez-Torres y col. [41] notaron que, en algunos casos, se puede predecir correctamente que los resultados de un determinado NC-RCB serán replicados por el RCB. Estos casos son referidos en adelante como los *NC-RCBs extrapolables*. De cumplirse lo anterior, la evaluación de la SEN del RCB puede incluir también aquellos *carcinógenos de humanos* que, circunstancialmente, sólo han sido estudiados en *NC-RCBs extrapolables*. Trabajar también con los *NC-RCBs extrapolables*, se consideró aquí como necesario por lo siguiente. De haber trabajado sólo con los *carcinógenos de humanos* que han sido

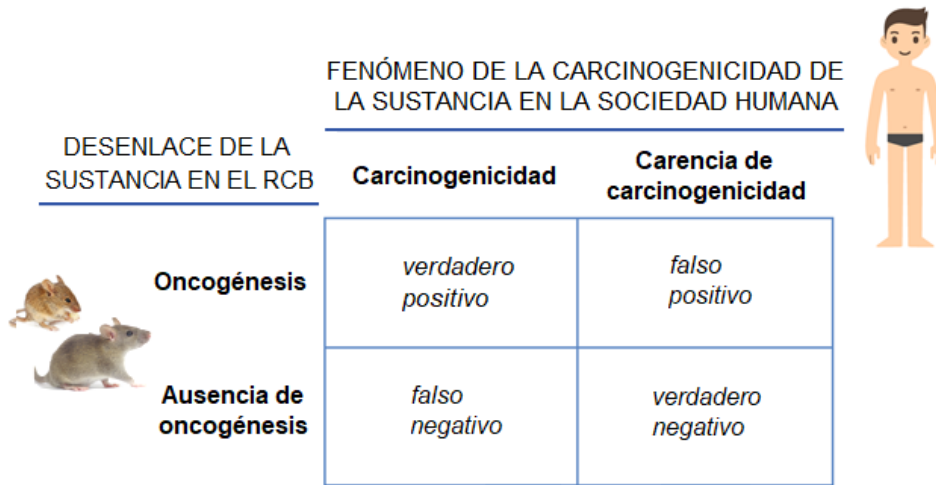


Figura 1. Clasificación de los *carcinógenos de humanos* (alternativamente, de los *no-carcinógenos de humanos*) ensayados en el RCB, a efectos de estimar la *sensibilidad* o *especificidad* del RCB




	Desenlace (presencia o ausencia de carcinogénesis) por sexo de la rata		Lectura en el RCB-rata
	♀	♂	♀♂
			
Caso 1	-	-	-
Caso 2	+	-	+
Caso 3	-	+	+
Caso 4	+	+	+

Figura 2. Algoritmo empleado en esta tesis para reconocer el resultado de los *carcinógenos de humanos* (alternativamente, de los *no-carcinógenos de humanos*) en el RCB-rata




	Desenlace (presencia o ausencia de carcinogénesis) por sexo del ratón		Lectura en el RCB-ratón
	♀	♂	♀♂
			
Caso 1	-	-	-
Caso 2	+	-	+
Caso 3	-	+	+
Caso 4	+	+	+

Figura 3. Algoritmo empleado en esta tesis para reconocer el resultado de los *carcinógenos de humanos* (alternativamente, de los *no-carcinógenos de humanos*) en el RCB-ratón





	Desenlace en el RCB-ratón	Desenlace en el RCB-rata	Lectura en el RCB de 2-especies (Config. #1)	Lectura en el RCB de 2-especies (Config. #2)
				
Caso 1	-	-	-	-
Caso 2	+	-	-	+
Caso 3	-	+	-	+
Caso 4	+	+	+	+

Figura 4. Algoritmos empleados en esta tesis para reconocer el resultado de los *carcinógenos de humanos* (alternativamente, de los *no-carcinógenos de humanos*) en los RCBs de 2-especies

ensayados en el RCB, habríamos contado con un conjunto de *carcinógenos de humanos* bastante reducido. A su vez, lo anterior habría disminuido notablemente la confiabilidad de nuestra evaluación de la SEN del RCB. A continuación, resumimos los fundamentos en los que se basó esta tesis para extrapolar los resultados de algunos NC-RCBs al RCB. Primero, y desde el punto de vista biológico, porque los *NC-RCBs extrapolables* emplearon las mismas cepas (o variantes) de roedores que los RCBs, basándose así en animales con una susceptibilidad y propensión a la *carcinogénesis química* similar a los empleados en los RCBs. Adicionalmente, porque los *NC-RCB extrapolables* aplicaron histopatología para detectar y diagnosticar los tumores, tal como lo hacen los RCBs. Además, los *NC-RCBs extrapolables* cumplieron con unas condiciones de alojamiento, nutrición, y veterinaria, que permiten descartar la potencial interferencia de factores de confusión sobre los resultados, tal como se espera de los RCBs. Hasta aquí, no parecen haber diferencias críticas entre los *NC-RCB extrapolables* y el RCB.

No obstante, hay puntos críticos en que los *NC-RCBs potencialmente extrapolables al RCB* sí difieren de los RCBs, incluyendo **(1)** el número de animales (p. ej., menos de la mitad de los 50 animales *por especie por sexo por dosis* empleados en los RCBs), y **(2)** la cantidad de órganos sometidos a histopatología (generalmente, menos de la mitad de los examinados en los RCBs). Al respecto, algunos *NC-RCBs extrapolables* sí emplearon *tamaños de la muestra* mayores a los empleados en los RCBs (p. ej., algunos NC-RCBs usaron más de 80 animales *por especie por sexo por dosis*). Entonces, dependiendo del *tamaño de la muestra* y del alcance de la examinación histopatológica, esta tesis clasificó a los *NC-RCBs potencialmente extrapolables* en **(1)** de menor *poder estadístico* que el RCB (a saber, aquellos NC-RCBs con tamaños de la muestra menores a 40, y/o, con examinaciones histopatológicas de menor alcance que el RCB), o **(2)** de mayor *poder estadístico* que el RCB (a saber, aquellos NC-RCBs con tamaño de la muestra mayor a 60).

Según la clasificación anterior, y dependiendo del desenlace observado en los *NC-RCB potencialmente extrapolables* (a saber, *carcinogénesis química* vs. ausencia de *carcinogénesis química*), los resultados de estos estudios se incluyeron en el cálculo de la SEN o SPEC del RCB, de acuerdo con los algoritmos de la [Tabla 3](#). Los algoritmos de la [Tabla 3](#) se basaron en los siguientes razonamientos. **Primero** (casos #1 y #3 de la [Tabla 3](#)), al tener mayor poder estadístico (y, por ende, una sensibilidad potencialmente superior), los RCBs deberían ser capaces de replicar la *carcinogénesis química* (observada ya sea para los *carcinógenos de humanos* o los *no-*

carcinógenos de humanos) evidenciada en los *NC-RCBs de menor poder estadístico* (analogía: un microscopio es capaz de detectar todo lo que detecta una lupa). **Segundo** (casos #2 y #4 de la [Tabla 3](#)), al tener el RCB mayor poder estadístico (y, por ende, una sensibilidad potencialmente superior), resulta incorrecto asumir que una *sustancia de prueba* sería negativa al RCB, basado en la ausencia de carcinogénesis de esa sustancia en *NC-RCBs de menor poder estadístico* (analogía: la ausencia de bacterias ante la lupa no implica su ausencia ante el microscopio). **Tercero** (casos #5 y #8 de la [Tabla 3](#)), al tener el RCB menor poder estadístico (y, por tanto, una sensibilidad potencialmente inferior), sería incorrecto concluir que una *sustancia de prueba* sería positiva al RCB basado en la observación de carcinogénesis química en *NC-RCBs de mayor poder estadístico* (analogía: la observación de bacterias en el microscopio no implica su evidencia ante la lupa). Sin embargo, en algunos casos, la *magnitud del efecto* (o la *potencia carcinogénica*, en este caso) evidenciada en los *NC-RCBs de mayor poder estadístico* puede ser tan alta que, al normalizar dicha *incidencia de tumores al tamaño de la muestra* de los RCBs actuales, la *incidencia normalizada* aún señale carcinogénesis química después de ser estadísticamente comparada con la *incidencia normalizada* del grupo control negativo. En esta tesis, la carcinogénesis observada en *NC-RCBs de mayor poder estadístico* se extrapola al RCB sólo si, después de la normalización al *tamaño de la muestra* de los RCBs actuales, las pruebas estadísticas seguían encontrando diferencias indicativas de carcinogénesis química (casos #6 y #9 de la [Tabla 3](#)).

Tabla 3. Algoritmos aplicados en esta tesis para extrapolar al RCB los desenlaces de algunos NC-RCBs

Poder estadístico del NC-RCB	Sustancia de prueba	Caso	Desenlace en el NC-RCB	Extrapolación al RCB	Computación al desempeño del RCB
Menor poder estadístico que el RCB	Carcinógeno de humanos	#1	Carcinogénesis	Positividad	<i>Verdaderos positivos</i>
		#2	Ausencia de carcinogénesis	No extrapolable	No computado
	No-carcinógeno de humanos	#3	Carcinogénesis	Positividad	<i>Falsos positivos</i>
		#4	Ausencia de carcinogénesis	No extrapolable	No computado
Mayor poder estadístico que el RCB	Carcinógeno de humanos	#5	Carcinogénesis, sólo por incidencia no-normalizada	No extrapolable	No computado
		#6	Carcinogénesis, mediante incidencia normalizada	Positividad	<i>Verdaderos positivos</i>
		#7	Ausencia de carcinogénesis	Negatividad	<i>Falsos negativos</i>
	No-carcinógeno de humanos	#8	Carcinogénesis, sólo por incidencia no-normalizada	No extrapolable	No computado (No incluido)
		#9	Carcinogénesis, mediante incidencia normalizada	Positividad	<i>Falsos positivos</i>
		#10	Ausencia de carcinogénesis	Negatividad	<i>Verdadero negativo</i>

Incidencia: En un determinado grupo de estudio (de la forma: dosis / sexo / especie), la proporción de animales con uno más neoplasmas de un mismo tipo tumoral; **Incidencia normalizada:** La incidencia de un determinado tipo tumoral proporcionalmente normalizada (o ajustada) a 50 animales *por dosis por sexo por especie*; **Incidencia no-normalizada:** La incidencia bruta (sin modificaciones matemáticas) de un determinado tipo tumoral en grupos de estudio con *tamaños de la muestra* mayores a 60; **No computado:** La no inclusión de un determinado *carcinógeno de humanos* (o *no-carcinógeno de humanos*) en el cálculo de la SEN o SPEC del RCB.

Cuarto (casos #7 y #10 de la [Tabla 3](#)), al tener menor poder estadístico (y, por ende, una sensibilidad potencialmente inferior), los RCBs replicarán la **ausencia de carcinogénesis** (asociada con los *carcinógenos de humanos*, alternativamente, con los *no-carcinógenos de humanos*) observada en los *NC-RCBs de mayor poder estadístico* (analogía: lo que es invisible al microscopio también lo es a la lupa). Además, la [Tabla 3](#) especifica el esquema de clasificación de las sustancias (según la [Fig. 1](#)), a efectos de calcular la SEN o SPEC del RCB (p. ej., falsos positivos; verdaderos negativos). Caso a caso (casos del #1 al #10), la [Tabla 3](#) se lee de izquierda a derecha, como se ejemplifica a continuación. Si el desenlace de un *no-carcinógeno de humanos* en un *NC-RCB de mayor poder estadístico* fue la *ausencia de carcinogénesis química* (caso #10 de la [Tabla 3](#)), entonces:

Se dedujo aquí que dicha sustancia sería negativa al RCB y, por ende, dicho *no-carcinógeno de humanos* se computó aquí como un *verdadero negativo* entregado por el RCB, a efectos de calcular la *especificidad* del RCB ([sección 9.4.1](#); [Tabla 3](#)). Para que el desenlace observado en un NC-RCB (ya sea este de mayor o de menor *poder estadístico* que el RCB) pueda ser extrapolado al RCB, así como para catalogar determinados estudios de *carcinogénesis en roedores* como **equivalentes al RCB**, estos estudios deben cumplir con una serie de aspectos metodológicos claves que hoy definen a los RCBs. Para simplificar la comunicación, en adelante, el término *estudios de carcinogénesis química en roedores* se usó aquí para mencionar inclusivamente tanto a los RCBs como a los *NC-RCBs extrapolables al RCB*. La [Tabla 4](#) describe los aspectos metodológicos mínimos que esta tesis requirió para considerar un *estudio de carcinogénesis en roedores* como *atribuible y extrapolable* al RCB.

Por consiguiente, las sustancias que cayeron en los casos #1, #3, #6, #7, #9, y #10 de la [Tabla 3](#) debieron cumplir con todos los aspectos metodológicos indicados en la [Tabla 4](#) para ser atribuidas al *desempeño predictivo* del RCB (p. ej., como *verdaderos positivos*; *falsos negativos*, etc.). Por su parte, la [Tabla 5](#) presenta los aspectos metodológicos que, en adición a los especificados en la [Tabla 4](#), fueron requeridos aquí para reconocer la *ausencia de carcinogénesis química* observada en determinados *estudios de carcinogénesis en roedores*, como atribuible y extrapolable al RCB. Requerir el cumplimiento de los aspectos metodológicos de la [Tabla 5](#) tuvo como objetivo la identificación de aquellos *estudios de carcinogénesis en roedores* con suficiente *poder estadístico* como para contar con una sensibilidad equivalente a la del RCB.

Lo anterior, ya que sólo los *estudios de carcinogénesis química en roedores* con una sensibilidad equivalente a la del RCB pueden **(1)** replicar (y, por ende, predecir) la *ausencia de carcinogénesis química* observable en los RCBs, o **(2)** ser identificados como equivalentes al RCB, de modo que la *ausencia de carcinogénesis* observada en ellos sea atribuible al RCB. Como parte de la metodología de esta tesis, los requerimientos de las [Tablas 4](#) y [5](#) fueron seleccionados tras considerar las guías para la adecuada conducción del RCB, recomendadas por las instituciones internacionales que son expertas en este bioensayo [[7-9,23,24,72](#)]. A continuación, se mencionan otras especificaciones de los *estudios de carcinogénesis en roedores*, en los que esta tesis basó su evaluación del desempeño predictivo del RCB. Por ejemplo, se reconoció la presencia de *carcinogénesis química* (o resultados positivos en el RCB) cuando los estudios cumplieron con cada una de las siguientes condiciones.

Uno. Si, comparado con el grupo *control negativo concurrente*, uno (o más) de los grupos expuestos a la *sustancia de prueba* presentó un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de al menos un *tipo de tumor* (benigno o maligno). Dicho desenlace se menciona en adelante como: *incremento en la incidencia de tumores*. Con *tipo de tumor*, nos referimos a la *clasificación histogénica-histopatológica de tumores* revisada por McConnell y col. [[73](#)], habitualmente empleada tanto en los RCBs como en los *NC-RCBs extrapolables*. Dos. Si, según la

Tabla 4. Los aspectos metodológicos que fueron requeridos en esta tesis para reconocer ciertos *estudios de carcinogénesis química en roedores*, reportados en la literatura, como atribuibles y extrapolables al RCB

Ser conducidos en ratas (<i>Rattus norvegicus</i>) o ratones (<i>Mus musculus</i>).
No corresponder a estudios del tipo: “ <i>iniciación-promoción; co-exposición a factores modificantes (p. ej., cambios dramáticos comparado con la dieta estándar), o co-exposición a sustancias carcinogénicas.</i> ”
No incurrir en intervenciones quirúrgicas (p. ej., castración, hepatectomía, histerectomía) sobre un porcentaje significativo (p. ej., > 5%) de los animales, por ejemplo, como parte de la metodología usada por los investigadores para verificar las hipótesis del estudio en cuestión.
Incurrir en tratamiento farmacológico (para evitar la enfermedad o muerte de algunos roedores por causas ajenas a la <i>sustancia de prueba</i> ; p. ej., infecciones) sólo con drogas o fármacos que, cuando fueron ensayados <i>in solo</i> (en solitario) en otros RCBs, resultaron en ausencia de carcinogénesis química.
Como vehículos o solventes para el suministro de la <i>sustancia de prueba</i> a los roedores, haber usado sustancias generalmente reconocidas como farmacológicamente inertes.
Contar con un <i>grupo control negativo</i> concurrente y adecuado.
No ser conducidos en animales transgénicos.
Haber transcurrido sin infecciones conocidas por incrementar el riesgo de neoplasia en roedores.
Detectar y diagnosticar los tumores mediante histopatología oncológica.
Aplicar el <i>alimento</i> y el <i>ciclo de luz-oscuridad</i> estándar de las pruebas de toxicología preclínica.

Tabla 5. Los aspectos metodológicos que fueron requeridos en esta tesis, para reconocer ciertos *estudios de carcinogénesis en roedores* concurrentes con ausencia de carcinogénesis química, como atribuibles al RCB

Someter a examinación histopatológica un abundante conjunto de órganos (p. ej., hígado, riñón, pulmón, bazo, vejiga urinaria, estómago, intestino delgado, intestino grueso, tiroides, timo, glándula mamaria, útero).
Ensayar una <i>dosis máxima tolerada</i> (MTD). Para sustancias de escasa toxicidad, como alternativa a la MTD, haber ensayado una <i>dosis límite</i> equivalente a: (1) 1 g/kg de peso corporal, para estudios con suministro por vía oral; (2) 5% peso/volumen, para estudios con suministro mediante el agua de beber, o (3) 5% del peso del alimento, para estudios con suministro de la <i>sustancia de prueba</i> mediante el alimento.
Examinar un número significativo de <i>animales en riesgo</i> . Esto es, (1) haber iniciado el estudio con al menos 40 roedores por grupo de estudio (es decir, 40 animales <i>por especie por sexo por dosis</i>), y no haber observado anomalías en la tasa de supervivencia comparado con el grupo control negativo concurrente, o (2) llegar al final del estudio con un mínimo de 20 roedores vivos en los distintos grupos de estudio.
Tratar a los animales con la <i>sustancia de prueba</i> durante un mínimo de (a) 18 meses, en el caso de los ratones, o (b) 22 meses, en el caso de las ratas.

prueba estadística *Cochran-Armitage Test for Trend*, el incremento en la incidencia de tumores estuvo acompañado de una tendencia del tipo *dosis-respuesta* [41,43]. Tres, si los autores del estudio de *carcinogénesis química en roedores*, reportaron un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de tumores según las pruebas estadísticas “**Peto**” o “**Poly-k**,” las cuales están reconocidas como las más adecuadas para la interpretación estadística de los datos de los RCBs [23,24]. Cuatro. Como alternativa a la condición anterior, si el autor de esta tesis verificó un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de tumores mediante la Prueba Exacta de Fisher (de dos colas, y con alfa de 0.05). Por otra parte, y siguiendo la hipótesis de que: « el RCB presentaría una *sensibilidad* distinta dependiendo del modo de acción de los carcinógenos », esta tesis

evaluó la SEN del RCB clasificando primero a los *carcinógenos de humanos* en **(a)** *mutagénicos*, o **(b)** *no-mutagénicos* [41,43]. Como *mutagénicos*, se reconoció aquí a los *carcinógenos de humanos* que **(1)** tienen fuerte evidencia mecanicista de que operan mediante modos de acción genotóxicos, según las evaluaciones de la IARC, y que, a su vez **(2)** cuentan con evidencia de mutagenicidad en las pruebas de toxicología genética [76,77]. Como *mutagénicos*, también reconocimos a los *carcinógenos de humanos* que tienen un mecanismo de acción **(1)** bien caracterizado en la literatura, y **(2)** empíricamente asociado con la mutagénesis (p. ej., la aducción covalente con el ADN; la inhibición de topoisomerasas; la unión al surco menor del ADN) [74,75,116-125].

Como *no-mutagénicos*, esta tesis identificó aquellos *carcinógenos de humanos* que **(1)** no cumplieron con ninguno de los criterios de la [Tabla 6](#) (es decir, aquellos *carcinógenos de humanos* que, según la evidencia experimental, carecen de genotoxicidad), y que **(2)** según la evaluación de los expertos de la IARC [57], tienen fuerte evidencia mecanicista de que operan mediante modos de acción no-genotóxicos, tales como los indicados en la [Tabla 7](#) [76,77]. Siguiendo la hipótesis de que: « el RCB ofrecería una *sensibilidad* diferente dependiendo de la ruta de exposición de los roedores a las *sustancias de prueba* », esta tesis estimó la SEN del RCB según las siguientes vías de exposición. Uno. Por vía *oral*, juntando en esta categoría diferentes rutas tales como **(1)** el *agua de beber* (a saber, la disolución o suspensión de la *sustancia de prueba* en el agua de beber); **(2)** los *alimentos* (a saber, la incorporación y mezcla de la *sustancia de prueba* en los alimentos), o **(3)** la alimentación forzada mediante sonda orogástrica (t.c.c. *gavage*).

Dos. Por vía de la inhalación (en adelante, mencionada como la vía inhalatoria). Para evaluar la SEN del RCB según esas vías de exposición, primero, fue necesario identificar las vías mediante las cuales se expusieron las personas (aquellas en las que se encontró un incremento en la incidencia de cáncer atribuible) a las sustancias reconocidas por la IARC, la U.S. EPA, o el U.S. NTP como *carcinógenos de humanos* [57-59]. Esas *vías de exposición* se identificaron aquí revisando los estudios epidemiológicos en los que se basaron esas instituciones para reconocer que, para dichas sustancias, hay *suficiente evidencia epidemiológica de carcinogénesis química en humanos* [41,43]. Para evaluar la SEN del RCB según la vía de exposición, el numerador y denominador de la [Ecuación #2](#) tuvo que corresponder a: los *carcinógenos de humanos* ensayados en el RCB mediante la misma vía de exposición para la que, epidemiológicamente, se observó el incremento en la incidencia de cáncer humano.

Para la mayoría de los *carcinógenos de humanos* en los que basamos la evaluación de la *SEN del RCB según la vía de exposición*, sí hubo concordancia entre las vías de exposición de los estudios epidemiológicos en humanos, y aquellas empleadas en los *estudios de carcinogénesis química en roedores*. Sin embargo, varios *carcinógenos de humanos* fueron ensayados en el RCB sólo mediante vías de exposición distintas a las involucradas en la evidencia epidemiológica de carcinogénesis en humanos. No obstante, la carcinogénesis química observada en roedores mediante vías de exposición distintas a las involucradas en la evidencia epidemiológica de carcinogénesis química en humanos, se consideró aquí como: « extrapolable a los RCBs hipotéticamente conducidos mediante la vía de exposición en humanos », si dicha conclusión está soportada por los siguientes casos. Uno, la evidencia empírica del carcinógeno (cualquiera de los criterios de la [Tabla 8](#)).

Dos, y en términos de revisión de la literatura, si la grande mayoría de las sustancias que han resultado carcinogénicas en el RCB por una determinada vía de exposición, también resultaron carcinogénicas en el RCB por la vía de exposición objeto de extrapolación. Al respecto, las [Tablas A1](#), [A5](#), y [A8](#) constituyen una parte significativa de tal revisión de la literatura. Para los *carcinógenos de humanos* en los que basamos la evaluación

de la SEN del RCB, las [Tablas A1 y A5](#) muestran **(1)** la ruta de exposición mediante la que se observó carcinogénesis química en el RCB, así como **(2)** la vía de exposición involucrada en el aumento de la incidencia de cáncer humano. De ese modo, las [Tablas A1 y A5](#) permiten identificar los casos (es decir, los carcinógenos y las rutas de exposición involucradas) en los que realizamos una extrapolación de carcinogénesis química, entre distintas rutas de exposición del RCB.

Tabla 6. Criterios empleados en esta tesis para identificar la *mutagenicidad* de los agentes químicos

Criterio	Descripción
No. 1	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> o <i>in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo in vitro o in vivo) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 2 bioensayos distintos que cubran cualquiera de estos dos modos de acción; p. ej., 2 bioensayos de clastogénesis in vivo).
No. 2	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> o <i>in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo in vitro o in vivo) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vitro</i> (al menos, mediante 2 bioensayos distintos que cubran cualquiera de los dos modos de acción; p. ej., 1 bioensayo de clastogénesis in vitro y 1 bioensayo de daño al ADN in vitro) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo in vivo dedicado a cualquiera de esos dos modos de acción).
No. 3	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> (al menos, mediante 1 bioensayo) + Evidencia de <i>Mutagenicidad in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo dedicado cualquiera de los dos modos de acción).
No. 4	Evidencia de <i>Clastogénesis</i> y <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 3 bioensayos distintos que, en conjunto, abarquen esos dos modos de acción; p. ej., 2 bioensayos de clastogénesis in vivo + 1 bioensayo daño al ADN in vivo).
No. 5	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> o <i>in vivo</i> (al menos, mediante 2 bioensayos; Ejemplo #1: 1 bioensayo in vitro y 1 bioensayo in vivo; Ejemplo #2: 2 bioensayos in vitro) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo dedicado a cualquiera de esos dos modos de acción)

Nota: Los bioensayos aceptados para cumplir con los criterios de la [Tabla 6](#) se especifican en la [Tabla A2](#) (Apéndice). Los *modos de acción* aludidos en esta [Tabla 6](#) son **(1)** mutagénesis; **(2)** clastogénesis; y **(3)** rotura múltiple del ADN.

Tabla 7. Modos de acción carcinogénica de los *carcinógenos no-mutagénicos*. [76,77]

Acción farmacológica sobre receptores de membrana o receptores nucleares (p. ej., agonismo, antagonismo).	Proliferación celular (independiente de, o no asociada con la citotoxicidad).
Inflamación crónica.	Inmortalización celular.
Inmunosupresión.	Mitogénesis (o Hiperplasia) regenerativa.
Alteraciones epigenéticas que (1) favorezcan la mitogénesis (p. ej., el encendido de <i>proto-oncogenes</i>), o (2) que desfavorezcan la apoptosis (p. ej., el apagado de <i>genes supresores de tumores</i>).	

Por otro lado, con frecuencia, una misma sustancia ha sido ensayada en más de un *estudio de carcinogénesis química en roedores*, incluyendo al RCB (a saber, estudios conducidos ya sea por el mismo grupo de investigación, o por grupos de investigación diferentes). En esos casos, esta tesis reconoció el desenlace final (o el resultado global) de las sustancias en el RCB, según la suma algebraica entre **(1)** el número de estudios adecuados con resultado positivo (o de carcinogénesis química), y **(2)** el número de estudios adecuados con

Tabla 8. Criterios para extrapolar la carcinogenicidad de una sustancia, observada en los RCBs mediante una vía de exposición, a otras vías de exposición por las que esa sustancia aún no ha sido ensayada en el RCB

Biodisponibilidad oral en humanos o roedores >10% (Nota #1: Este criterio se aplicó sólo en el caso de extrapolaciones desde las vías <i>inhalación</i> o <i>inyección parenteral</i> , hacia la vía <i>oral</i> . Nota #2: Este criterio se consideró válido, de acuerdo con los datos revisados en Suarez-Torres y col. [84]. Los datos revisados por dichos autores muestran que: una biodisponibilidad >10% basta para que, a dosis suficientes, los <i>carcinógenos con suficiente potencia</i> inflijan la carcinogénesis química [84].
La sustancia es un fármaco autorizado para uso médico por la vía de exposición objeto de la extrapolación; lo que sugiere que, mediante esa vía de tratamiento, la sustancia (1) tiene considerable biodisponibilidad; (2) es biológicamente activa, y, por ende, (3) tiene carcinogenicidad innata (entre otras propiedades farmacológicas que esta pueda tener por dicha vía), si la sustancia se trata de un carcinógeno.
Si, de acuerdo con la literatura, se observaron <i>respuestas biológicas</i> estadísticamente significativas (p. ej., respuestas terapéuticas; respuestas tóxicas) mediante la vía objeto de extrapolación. Lo anterior implicaría que, en condiciones de exposición suficientes, la carcinogenicidad de esta sustancia será concurrente con las otras respuestas biológicas ya observadas en los mencionados estudios.

Nota: Estos criterios se aplicaron sobre la base *sustancia por sustancia* (es decir, caso a caso)

resultado negativo (o de ausencia de carcinogénesis química). Esta tesis consideró dicha aproximación como: « menos propensa a sesgos sobre la posible carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) en el RCB, de una determinada sustancia de prueba ». Además, dicha aproximación buscó considerar la inevitable influencia de la desconocida *repetibilidad* y *reproducibilidad* del RCB, sobre la SEN y SPEC de este bioensayo preclínico. Por ejemplo, si la *repetibilidad* y *reproducibilidad* del RCB fuese significativamente menor a 100%, entonces, se encontrarían resultados tanto positivos como negativos después de someter una misma *sustancia de prueba* a múltiples RCBs. En tal sentido, dicha aproximación concordó con el enfoque de evaluación conocido como el *peso de la evidencia* (Weight of Evidence), empleado, por ejemplo, por la FAO/WHO JMPR para discernir la posible *carcinogenicidad para los humanos por ingestión*, de aquellas drogas pesticidas (ingredientes activos de productos plaguicidas) que fueron ensayadas en múltiples *estudios de carcinogénesis química en roedores* [78].

9.4. Estimación de la especificidad del RCB

9.4.1. Cálculo

La *especificidad* (SPEC) de un bioensayo preclínico describe su grado de habilidad en ser insensible (es decir, de *no-responder*) a las sustancias que carecen de una determinada habilidad o propiedad, según lo establecido por el estándar de referencia simulado por el bioensayo [4,44,52]. Desde un conjunto de sustancias ensayadas tanto en el bioensayo predictivo como en su estándar de referencia, típicamente, la SPEC se calcula como: « la proporción de sustancias que resultaron negativas en el bioensayo predictivo del total de sustancias que son negativas al respectivo estándar de referencia » [4,44,52-54]. Al respecto, Suarez-Torres y col. [55] revisaron la base matemática del cálculo corriente de la SPEC, según lo explicado a continuación. La *especificidad* (SPEC) de un bioensayo preclínico puede plantearse en términos probabilísticos partiendo de preguntas como: « ¿Cuál es la probabilidad de que el bioensayo preclínico entregue un resultado negativo **dado** que la *sustancia de prueba*

es negativa al estándar de referencia simulado por dicho bioensayo? ». Según la definición de probabilidad en términos de *frecuencia relativa* [56], Suarez-Torres y col. [55] plantearon que esa pregunta puede formularse en términos de *probabilidad condicional* [56], como se muestra en la **Ecuación #3**. En la **Ecuación #3**, **(1)** el término **P(BIOASSAY- | RS-)** expresa: la probabilidad de que el bioensayo predictivo entregue un resultado negativo *toda vez* que la *sustancia de prueba* es negativa al respectivo estándar de referencia; **(2)** el término **n(BIOASSAY- ∩ RS-)**, representa el número de sustancias que resultaron negativas tanto en el bioensayo preclínico como en su estándar de referencia, y **(3)** el término **nRS-**, representa el número total de sustancias negativas al estándar de referencia que, a su vez, cuentan con resultados disponibles en el bioensayo correspondiente. Ergo, para las sustancias que son negativas al respectivo estándar de referencia, el término **nRS-** incluye a los *verdaderos negativos* y a los *falsos positivos* entregados por el bioensayo. En la medida que el bioensayo preclínico tenga mayor *especificidad* (SPEC), mayor será la probabilidad expresada por el término **P(BIOASSAY- | RS-)**, y viceversa. Por consiguiente, en la **Ecuación #3**, el término **P(BIOASSAY- | RS-)** es intercambiable con (y equivalente a) la expresión **SPEC**, lo que da lugar al cálculo típico de la *especificidad*:

$$P(\text{BIOASSAY} - | \text{RS} -) \approx \frac{n(\text{BIOASSAY} - \cap \text{RS} -)}{n\text{RS} -} \quad (3)$$

$$\text{SPEC} \equiv P(\text{BIOASSAY} - | \text{RS} -) \approx \frac{n(\text{BIOASSAY} - \cap \text{RS} -)}{n\text{RS} -} = \frac{\text{verdaderos negativos}}{\text{verdaderos negativos} + \text{falsos positivos}} \times 100\% \quad (4)$$

9.4.2. Reconocimiento de las sustancias negativas al estándar de referencia

En esta tesis, la *especificidad* del RCB se evaluó como: « el porcentaje de sustancias negativas al RCB dentro de un conjunto de sustancias identificadas aquí como negativas al estándar de referencia simulado por el RCB » (**Ecuación #4**) [42,43]. Previamente (**sección 9.3.2**), se argumentó que la farmacoepidemiología y toxicoepidemiología están generalmente reconocidas como los estándares de referencia, cuyos resultados busca predecir el RCB. Ahora bien, esta tesis no encontró evaluaciones (p. ej., trabajos académicos, evaluaciones de instituciones gubernamentales) basadas en estudios epidemiológicos que, en el plano toxicológico de la *identificación de peligros*, muestren la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de sustancias específicas. Lo anterior, podría deberse a **(1)** la titánica dificultad de probar un negativo (o la negatividad), como fenómeno de la naturaleza, y, en particular **(2)** a la enorme dificultad de probar que algunas sustancias carecen de carcinogenicidad innata mediante la epidemiología. Entonces, esta tesis optó por descartar a la epidemiología como herramienta para identificar a las sustancias carentes de carcinogenicidad innata para los humanos.

En consecuencia, ideamos un método alternativo a la epidemiología para examinar la posible *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias. Al respecto, **(1)** basado en lo avanzado del conocimiento que hay sobre los mecanismos de acción fisiológica, farmacológica, o toxicológica de las sustancias, y **(2)** con base en el poder del razonamiento humano para resolver interrogantes desde los datos, fue que planteamos la siguiente hipótesis: « que, mediante la *corriente de evidencia* conocida en toxicología reguladora como los *datos mecanicistas* [1,79], sería posible identificar a las sustancias *carentes de carcinogenicidad innata para los humanos* con confianza y aceptación internacional » [42,43]. Así, divisamos una

serie de características mecanicistas que, sobre la base caso por caso, pueden justificar la clasificación de una determinada sustancia como *carente de carcinogenicidad innata para los humanos* (en adelante, sustancias mencionadas aquí como los *no-carcinógenos de humanos*) [42,43]. En tal sentido, la [Tabla 9](#) recoge las características mecanicistas usadas en esta tesis para identificar a los *no-carcinógenos de humanos* (a saber, *no-carcinógenos de humanos* sobre los cuales basar la evaluación de la SPEC del RCB). Ahora bien, por sí sola, ninguna de las características de la [Tabla 9](#) se propuso aquí como suficiente evidencia para justificar el reconocimiento de una sustancia como *no-carcinógenos de humanos*. Sobre la base *sustancia por sustancia*, esta tesis interpretó diferentes combinaciones de las características mecanicistas de la [Tabla 9](#), como indicativo de la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de sustancias específicas [42,43].

Para cada *no-carcinógeno de humanos* en los que basamos la evaluación de la SPEC del RCB, la [Tabla A7](#) especifica los datos mecanicistas mediante los que identificamos dichas sustancias como *no-carcinógenos de humanos* [42,43]. Las distintas combinaciones de datos mecanicistas empleadas aquí para identificar a los *no-carcinógenos de humanos*, apuntaron sólidamente hacia la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de la sustancia en cuestión ([Tabla 9](#); [Tabla A7](#)). Como ejemplo de lo anterior, resumiremos el caso de una de las 92 sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos* [42,43]. La glicerina (t.c.c. glicerol) fue identificada aquí como un *no-carcinógeno de humanos*, considerando que la glicerina es **(1)** una molécula nutricional presente en una diversidad de alimentos de origen animal y vegetal; **(2)** ubicada en el cuerpo humano, por ser esqueleto de triglicéridos y fosfolípidos; **(3)** un metabolito endógeno del cuerpo humano, y **(4)** carente de mutagenicidad y genotoxicidad en distintas pruebas de toxicología genética [42,43].

En ese sentido, **(1)** debido a la insignificante preocupación por carcinogenicidad que despiertan las sustancias que cumplen con características de la [Tabla 9](#), sumado a **(2)** lo costoso y prologando de los RCBs, la gran mayoría de los *no-carcinógenos de humanos* nunca serán ensayados en el RCB. Considerando lo anterior, enfocamos la búsqueda de los *no-carcinógenos de humanos* en aquellas sustancias **(1)** con alta propensión a la carencia de carcinogenicidad innata, y **(2)** que, por imposición gubernamental, sí hubiesen sido ensayadas en el RCB (p. ej., como requisito para su comercialización). Figuramos entonces que, en su enorme mayoría, los *no-carcinógenos de humanos* ensayados en el RCB serían *aditivos alimentarios, excipientes de medicamentos, o ingredientes de productos cosméticos*. Para conocer la mayor cantidad de potenciales *no-carcinógenos de humanos*, posiblemente ensayados en el RCB, esta tesis consultó las bases de datos de la [Tabla 10](#).

Tabla 9. Características mecanicistas empleadas en esta tesis como indicativo parcial de la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de sustancias específicas

En el caso de las sustancias que son una mezcla de distintas entidades moleculares, estar compuestas en su gran mayoría por sustancias nutricionales de origen natural (p. ej., carbohidratos, proteínas, aminoácidos)
Ser una molécula (o entidad molecular) nutricional de origen natural (p. ej., la sucrosa).
Ser una vitamina o, alternativamente, el precursor de una vitamina (p. ej., el beta-caroteno).
Ser un intermediario del metabolismo humano (p. ej., el ácido cítrico).
Estar extensivamente presente en las dietas humanas tradicionales.
Ser sustantivamente metabolizada en sustancias nutricionales.
En proporciones significativas, ser constituyente de frutas y vegetales comestibles.

(continúa)

Tabla 9. Características mecanicistas empleadas en esta tesis como indicativo parcial de la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de sustancias específicas (*continuación*)

Ser sustantivamente metabolizada a intermediarios del metabolismo fisiológico humano.
Ser sustantivamente metabolizada a subproductos del metabolismo fisiológico humano.
No ser metabolizada (en ningún grado) tras (1) ser absorbida, y (2) tras estar sistémicamente biodisponible.
Experimentar insignificante o irrelevante absorción oral (p. ej., < 1%).
Carecer de mutagenicidad y genotoxicidad.
Ser sustantivamente metabolizada a sustancias biológicamente inertes (es decir, a sustancias de minúscula o diminuta toxicidad; p. ej., el ácido hipúrico).
No haber incrementado la incidencia de lesiones histopatológicas (incluyendo tanto a las <i>lesiones no-neoplásicas</i> como a las <i>lesiones pre-neoplásicas</i>) en estudios de toxicidad crónica en perros y primates.
No haber incrementado la incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el RCB.
Carecer de los mecanismos de acción asociados a la mutagénesis u otras formas de genotoxicidad (p. ej., aducción covalente al ADN; inhibición de las topoisomerasas; inhibición de ADN-polimerasas; inhibición de la polimerización de los microtúbulos).

Tabla 10. Bases de datos consultadas en esta tesis para encontrar potenciales *no-carcinógenos de humanos* ya ensayados en el RCB

<i>U.S. FDA Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products.</i>
<i>U.S. FDA GRAS Substances (SCOGS) Database.</i>
<i>U.S. FDA GRAS Notices Inventory.</i>
<i>U.S. FDA Summary of Color Additives for Use in the United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices.</i>
<i>Evaluations of the FAO/WHO JECFA (Functional class: Food additives).</i>
<i>CosIng: the European Commission Database on Cosmetic Substances and Ingredients.</i>

9.4.3. Reconocimiento de los resultados de las sustancias en el RCB

Aplicamos la metodología descrita en la [sección 9.3.3](#) (incluyendo los criterios de las [Tablas 4 y 5](#)) para reconocer los resultados en el RCB (a saber, *carcinogénesis química vs. ausencia de carcinogénesis química*) de las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos* ([Tabla A7](#)). Por otra parte, todos los *no-carcinógenos de humanos* en los que basamos la especificidad (SPEC) del RCB, son sustancias que sólo fueron ensayadas por vía oral en los respectivos *estudios de carcinogénesis química en roedores* ([Tabla A7](#)). Esta tesis no encontró (ni estuvo al tanto de) argumentos que justifiquen la extrapolación de los resultados observados por la vía oral del RCB, a las otras vías de exposición empleadas en este bioensayo. Como lo muestra la [Tabla A7](#), casi todas las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos*, son sustancias que cuentan con evidencia empírica de carencia de genotoxicidad. Como consecuencia, en materia de SPEC, esta tesis sólo evaluó: « la SPEC de la vía oral del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ».

10. Metodología (Parte 2: Objetivos Específicos #3 y #4)

10.1. Cálculos (*valores predictivos y probabilidades de verosimilitud*)

El *valor predictivo positivo* (VPP) es un concepto que menciona: « la probabilidad cuantitativa de que el resultado positivo entregado por un bioensayo preclínico para una determinada sustancia, concuerde (y, por ende, de que correctamente prediga) el resultado de esa misma sustancia en el respectivo estándar de referencia (simulado por dicho bioensayo) » [55]. El VPP también puede expresarse como: « la probabilidad de que el resultado positivo entregado por un bioensayo predictivo para una determinada sustancia, se trate de un *verdadero positivo* (y no de un *falso positivo*) » [55]. Por su parte, el *valor predictivo negativo* (VPN) menciona: « la probabilidad numérica de que el resultado negativo entregado por una prueba preclínica para una sustancia, coincida (y correctamente prediga) el desenlace de esa misma sustancia en el respectivo estándar de referencia » [55]. Por ende, el VPN también puede interpretarse como: « la probabilidad de que el resultado negativo entregado por una prueba preclínica para una sustancia, se trate de un *verdadero negativo* (y no de un *falso negativo*) » [55].

Según lo explicado en las [secciones 2 y 9.3.2](#), en el caso del RCB, el VPP corresponde a: « la probabilidad numérica de que la *sustancia de prueba* (que resultó positiva en el RCB) sea connaturalmente carcinogénica para los humanos ». Del mismo modo, en el caso del RCB, el VPN corresponde a: « la probabilidad numérica de que la *sustancia de prueba* (que resultó negativa en el RCB) carezca de carcinogenicidad innata para los humanos ». Desde un conjunto de sustancias examinadas tanto en el bioensayo preclínico como en su estándar de referencia, **(1)** el VPP se calcula como: « la proporción de sustancias positivas al *estándar de referencia* del total de sustancias positivas en el *bioensayo predictivo* » [55], mientras que, **(2)** el VPN se calcula como: « la proporción de sustancias negativas al *estándar de referencia* del total de sustancias negativas en el respectivo bioensayo » [55]. Al respecto, Suarez-Torres y col. [55] revisaron las bases del cálculo corriente de los VPP y VPN, según lo explicado a continuación. Para una sustancia particular, el VPP del resultado (positivo) entregado por un determinado bioensayo, puede plantearse en términos probabilísticos con preguntas tales como: «¿Cuál es la probabilidad de que la *sustancia de prueba* sea positiva al respectivo *estándar de referencia* **dado** que dicha sustancia resultó positiva en el *bioensayo preclínico* correspondiente?» [55].

Semejantemente. Para una determinada sustancia, el VPN del resultado (negativo) entregado por un bioensayo particular puede plantearse en términos probabilísticos desde preguntas como: «¿Cuál es la probabilidad de que la *sustancia de prueba* sea negativa en el respectivo *estándar de referencia* **dado** que la sustancia resultó negativa en el bioensayo predictivo que simula dicho *estándar de referencia*?». Según la definición de probabilidad en términos de *frecuencia relativa* [56], Suarez-Torres y col. [55] revisaron que dichas preguntas pueden formularse en términos de *probabilidad condicional* (Ecuaciones #5 y #7) [55,56]. En la [Ecuación #5](#), **(1)** el término **P(RS+ | BIOASSAY+)** expresa: la probabilidad de que la *sustancia de prueba* sea positiva al estándar de referencia *dado* que dicha sustancia resultó positiva en el respectivo bioensayo; **(2)** el término **n(RS+∩ BIOASSAY+)** representa el número de sustancias que resultaron positivas tanto en el bioensayo preclínico como en su estándar de referencia (esto, por definición, corresponde a los *verdaderos positivos*), y **(3)** el término **nBIOASSAY+** expresa el número de *sustancias positivas al bioensayo preclínico* con resultados disponibles en

el estándar de referencia. En tal sentido, el término **nBIOASSAY+** abarca a los *verdaderos positivos* y a los *falsos positivos* que la prueba preclínica ha entregado para distintas sustancias que son positivas o negativas a su estándar de referencia (p. ej., ver Fig. 1), el. Por definición, el VPP equivale a la probabilidad denotada por el término **P(RS+ | BIOASSAY+)** [55]. Por ende, en la Ecuación #5, el término **P(RS+ | BIOASSAY+)** es sustituible por (y equivalente al) el término VPP, lo que deriva en el cálculo corriente del *valor predictivo positivo*:

$$P(RS + | BIOASSAY +) \approx \frac{n(RS + \cap BIOASSAY +)}{nBIOASSAY +} \quad (5)$$

$$VPP \equiv P(RS + | BIOASSAY +) \approx \frac{n(RS + \cap BIOASSAY +)}{nBIOASSAY +} = \frac{\text{verdaderos positivos}}{\text{verdaderos positivos} + \text{falsos positivos}} \times 100\% \quad (6)$$

Suarez-Torres et al. [55] también revisaron que, según la definición de probabilidad en términos de frecuencia relativa [56], la pregunta mencionada arriba acerca del *valor predictivo negativo* (VPN) puede formularse en términos de *probabilidad condicional*, como se muestra en la Ecuación #7.

$$P(RS - | BIOASSAY -) \approx \frac{n(RS - \cap BIOASSAY -)}{nBIOASSAY -} \quad (7)$$

En la Ecuación #7, (1) el término **P(RS- | BIOASSAY-)** expresa: la probabilidad de que la *sustancia de prueba* sea negativa al estándar de referencia *toda vez* que esta sustancia resultó negativa en el respectivo bioensayo predictivo; (2) el término **n(RS-∩ BIOASSAY-)** representa el número de sustancias que resultaron negativas tanto en el bioensayo preclínico como en su estándar de referencia (es decir, los *verdaderos negativos* entregados por el bioensayo), y (3) el término **nBIOASSAY-** expresa el número de *sustancias que resultaron negativas en el bioensayo preclínico* con resultados disponibles en el respectivo estándar de referencia. En ese sentido, el término **nBIOASSAY-** abarca tanto a los *verdaderos negativos* como a los *falsos negativos* que la prueba preclínica ha entregado para distintas sustancias que ya fueron examinadas en el respectivo estándar de referencia (Fig. 1) [55]. Según lo revisado al comienzo de esta sección 10.1, conceptualmente, el VPN equivale al término **P(RS- | BIOASSAY-)** [55]. Por tanto, en la Ecuación #7, el término **P(RS- | BIOASSAY-)** es sustituible por el término VPN, lo que conduce al cálculo corriente del *valor predictivo negativo* (VPN):

$$VPN \equiv P(RS - | BIOASSAY -) = \frac{n(RS - \cap BIOASSAY -)}{nBIOASSAY -} = \frac{\text{verdaderos negativos}}{\text{verdaderos negativos} + \text{falsos negativos}} \times 100\% \quad (8)$$

Ahora bien. Suarez-Torres y col. [55] razonaron que, mediante las Ecuaciones #6 y #8, la estimación de los *valores predictivos* es correcta si, y sólo si, el conjunto de sustancias ya examinadas tanto en el bioensayo preclínico como en su estándar de referencia, corresponde a: «una agrupación consistente de sustancias claramente similares (o semejantes) a la sustancia de la que estamos estimando el valor predictivo del resultado entregado por un determinado bioensayo preclínico (p.ej., sobresaliente semejanza en términos fisicoquímicos, químicos, farmacológicos, o toxicológicos)». Dichos autores denominaron a la estimación de los valores predictivos vía Ecuación #6 o Ecuación #8, el Pronóstico Directo (the *Straightforward forecasting*) [55].

Los autores también plantearon que, para que la sobresaliente semejanza (entre el *conjunto químico* y la *sustancia de prueba*) sea relevante, la similitud debería ser en términos de atributos (p. ej., farmacóforos; mecanismos de acción farmacológica) con notable influencia sobre el *punto final* (o *endpoint*) examinado por el estándar de referencia respectivo [55]. En ciertos casos, sin embargo, no se sabe con certeza si las sustancias ya examinadas tanto en el bioensayo predictivo como en su estándar de referencia (en adelante, sustancias mencionadas aquí como el *conjunto químico*) son claramente similares, semejantes, o representativas de la *sustancia de prueba* (**Caso #1**). En otros casos, no se logra con certeza identificar una clase (o categoría) a la cual atribuir a la *sustancia de prueba* (p. ej., en términos de clase química, farmacológica, etc.), lo que impide evaluar si hay sobresaliente semejanza entre el *conjunto químico* y la *sustancia de prueba* (**Caso #2**).

En otras instancias, la cantidad de químicos de la misma clase (o categoría) que la *sustancia de prueba*, ya examinados tanto en el bioensayo preclínico como en el estándar de referencia que este simula, resulta insuficiente como para soportar la idoneidad en el uso de las Ecuaciones #6 y #8 (debido a que, si el *conjunto químico* es muy pequeño, hay una importante probabilidad de que el mismo no sea lo suficientemente representativo de la *sustancia de prueba*) (**Caso #3**) [55]. Esto último (el **Caso #3**), ilustra cómo la confiabilidad y relevancia de los *valores predictivos* (p. ej., el VPP) depende del tamaño del (es decir, de la cantidad de sustancias contenidas en el) *conjunto químico*, en el que se basa la respectiva estimación. En casos como los mencionados anteriormente (Casos del #1 al #3), sería deseable contar con otro procedimiento que permita aproximarnos a los *valores predictivos* de la manera menos dependiente posible con respecto de: la semejanza entre el *conjunto químico* y la *sustancia de prueba*.

A continuación, se resume la aproximación matemática propuesta por esta tesis para tales casos. En el caso de los bioensayos preclínicos, el *cociente de verosimilitud positiva* (LR+) expresa: « cuantas veces más probable es que la prueba preclínica entregue resultados positivos para las sustancias que son positivas al respectivo estándar de referencia, comparado con las sustancias que son negativas a dicho estándar de referencia » (Ecuación #9) [55,80,81]. Por su parte, el *cociente de verosimilitud negativa* (LR-) denota: « cuantas veces más probable es que el bioensayo entregue resultados negativos para las sustancias que son negativas al respectivo estándar de referencia, comparado con las sustancias que son positivas a dicho estándar de referencia » (Ecuación #10) [55,80,81]. De acuerdo con la estadística, tanto el numerador como el denominador de los *cocientes de verosimilitud* corresponde a *probabilidades condicionales* [55,80,81]. En tal sentido, la demostración

$$LR(+) = \frac{P(\text{BIOASSAY} + | \text{RS} +)}{P(\text{BIOASSAY} + | \text{RS} -)} \quad (9)$$

$$LR(-) = \frac{P(\text{BIOASSAY} - | \text{RS} -)}{P(\text{BIOASSAY} - | \text{RS} +)} \quad (10)$$

$$\frac{P(\text{BIOASSAY} + | \text{RS} +)}{P(\text{BIOASSAY} + | \text{RS} -)} \approx \frac{\text{SEN}}{1 - \text{SPEC}} \quad (11)$$

$$\frac{P(\text{BIOASSAY} - | \text{RS} -)}{P(\text{BIOASSAY} - | \text{RS} +)} \approx \frac{\text{SPEC}}{1 - \text{SEN}} \quad (12)$$

matemática planteada en Suarez-Torres y col. [55] muestra que las Ecuaciones #11 y #12 son matemáticamente correctas, así como el origen de dichas ecuaciones. A su vez, la incorporación (1) de la Ecuación #11 en la Ecuación #9, y (2) la incorporación de la Ecuación #12 en la Ecuación #10, resulta en: « que los cocientes de verosimilitud asociados a los resultados de una prueba predictiva, pueden ser estimados desde el conocimiento disponible acerca de la sensibilidad y especificidad de dicho bioensayo predictivo » [55], a saber:

$$LR(+)\approx\frac{SEN}{1-SPEC}\quad(13)$$

$$LR(-)\approx\frac{SPEC}{1-SEN}\quad(14)$$

Al ser razones (t.c.c. ratios), los cocientes de verosimilitud (p. ej., el LR+) **no** son ni probabilidades (t.c.c. probabilities) ni chances (t.c.c. odds) [p. ej., examinar la Ecuación #9]. Sin embargo, el Prof. Goodman [81] desarrolló una matemática que permite traducir los cocientes de verosimilitud al campo de las probabilidades, lo cual, según esta tesis doctoral (ver abajo), permite traducir los cocientes de verosimilitud en términos de valores predictivos (es decir, traducir los cocientes de verosimilitud en probabilidades de concordancia entre los resultados de un bioensayo predictivo y los de su estándar de referencia). Goodman [81] mostró que el inverso de cada cociente de verosimilitud puede traducirse en términos del valor-p (t.c.c., p-value). A continuación, esta tesis aplica el planteamiento de Goodman [81] al caso de los bioensayos preclínicos. Según Goodman [81]:

$$\frac{P(\text{BIOASSAY}+|\text{RS}-)}{P(\text{BIOASSAY}+|\text{RS}+)}=e^{-\left(\frac{Z\times Z}{2}\right)}\quad(15)$$

$$\frac{P(\text{BIOASSAY}-|\text{RS}+)}{P(\text{BIOASSAY}-|\text{RS}-)}=e^{-\left(\frac{Z\times Z}{2}\right)}\quad(16)$$

En las Ecuaciones #15 y #16, el término **Z** representa: el número de desviaciones estándar por las que una determinada observación se desvía de la media del fenómeno en estudio (lo anterior, asumiendo que dicho fenómeno sigue una distribución normal o gaussiana). Sustituyendo las Ecuaciones #9 y #10 en las Ecuaciones #15 y #16, respectivamente, se obtiene que:

$$\frac{1}{LR(+)}=e^{-\left(\frac{Z\times Z}{2}\right)}\quad(17)$$

$$\frac{1}{LR(-)}=e^{-\left(\frac{Z\times Z}{2}\right)}\quad(18)$$

Como resultado del despeje matemático de **Z** en las Ecuaciones #17 y #18, tenemos que:

$$Z=\sqrt{-2\times\ln\left(\frac{1}{LR(+)}\right)}\quad(19)$$

$$Z=\sqrt{-2\times\ln\left(\frac{1}{LR(-)}\right)}\quad(20)$$

Entonces, conociendo la *puntuación Z* correspondiente a un determinado *cociente de verosimilitud* (a saber, mediante la [Ecuación #19](#) o [Ecuación #20](#)), es posible calcular el *valor-p* (para hipótesis de dos colas) asociado a dicha puntuación Z (p. ej., mediante calculadoras estadísticas, hojas de cálculo, o tablas de la distribución normal). Ahora bien, como se conoce actualmente, el *valor-p* se puede interpretar como: **(1)** la probabilidad de que acontezca un resultado como el observado, asumiendo que la *hipótesis nula* es verdadera (dependiendo de la magnitud del *valor-p*, algunos re-interpretan esto como la probabilidad de veracidad o falsedad de la hipótesis nula), o **(2)** como la probabilidad de *errar* al rechazar la hipótesis nula, en caso que esta sea verdadera [82]. Basado en la matemática de Goodman [81], en el caso de los bioensayos predictivos, Suarez-Torres y col. [55] dedujeron que la *hipótesis nula* plantea lo siguiente.

Para una determinada *sustancia de prueba*, **(1)** el bioensayo preclínico fallará, entregando así un resultado falso (o sea, un resultado que no predice el comportamiento de esa sustancia en el estándar de referencia) (**Interpretación #1**), o **(2)** que el resultado entregado por la prueba preclínica no concuerda con el resultado de esa sustancia en el respectivo estándar de referencia (**Interpretación #2**). Para una determinada sustancia, mediante el *valor-p* correspondiente al respectivo *cociente de verosimilitud*, es posible estimar **(1)** la probabilidad de que ocurra un resultado como el observado en el bioensayo preclínico, *asumiendo* que este bioensayo entregaría un resultado falso (**Interpretación #1**); o **(2)** la probabilidad de *errar* al asumir como verdadero el resultado del bioensayo preclínico, en el caso que dicho resultado sea falso (**Interpretación #2.1**), o **(3)** la probabilidad de *errar* al asumir que hay concordancia entre el resultado del bioensayo predictivo y el resultado de su estándar de referencia, en caso que, realmente, no haya tal concordancia (**Interpretación #2.2**). Según la magnitud del término $[1 - \text{valor-p}]$, la **Interpretación #1** podría parafarsearse como: « la probabilidad de que la hipótesis nula sea falsa y, por ende, como la probabilidad de que el resultado entregado por la prueba predictiva (para una determinada sustancia) sea verdadero ».

Según la magnitud del término $[1 - \text{valor-p}]$, las **Interpretaciones #2 y #3** podrían parafarsearse como: « la probabilidad de acertar al asumir que el resultado entregado por el bioensayo preclínico (para una determinada sustancia) es verdadero (es decir, concordante con el resultado del estándar de referencia) ». Resulta útil visualizar que, en términos probabilísticos, esas tres interpretaciones van de la mano con el significado de los *valores predictivos*. Por ende, en el caso del RCB, el término $[1 - \text{valor-p}]$ se aproxima a la *~probabilidad de carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos~* de determinadas sustancias. Para las sustancias blanco de los [objetivos específicos #3 y #4](#), en adición a los *valores predictivos* calculados vía Pronóstico Directo (p. ej., [Ecuación #6](#)), esta tesis estimó los *valores predictivos* de los resultados entregados por el RCB con base en los respectivos *cocientes de verosimilitud*, de acuerdo con las siguientes ecuaciones. La [Ecuación #21](#): para calcular el valor predictivo de un resultado positivo entregado por el RCB, basado en el **LR(+)** correspondiente; lo cual hemos llamado la *probabilidad de verosimilitud positiva* (PVP) [55].

La [Ecuación #22](#): para calcular el valor predictivo de un resultado negativo entregado por el RCB, basado en el respectivo **LR(-)**; lo cual Suarez-Torres y col. [55] llamaron la *probabilidad de verosimilitud negativa* (PVN) [55]. En la [Ecuación #21](#), el término $[1 - \text{valor-p}; \text{LR+}]$ representa la contraparte del *valor-p*, contraparte que resulta de traducir el respectivo *cociente de verosimilitud positiva* (LR+) (p. ej., vía [Ecuación #19](#)). En la [Ecuación #22](#), el término $[1 - \text{valor-p}; \text{LR-}]$ representa la contraparte del *valor-p* que resulta de traducir el correspondiente *cociente de verosimilitud negativa* (LR-) (p. ej., vía [Ecuación #20](#)). Los respectivos autores, plantearon que las *probabilidades de verosimilitud* (p. ej., [Ecuación #21](#)) no son totalmente dependientes del grado de semejanza

entre el *conjunto químico* y la *sustancia de prueba*; como sí lo es el Pronóstico Directo (cuya validez depende por completo de la sobresaliente similitud entre el conjunto químico y la sustancia de prueba) [55]. Suarez-Torres y col. [55] plantearon que los *cocientes de verosimilitud* no son totalmente dependientes de una sobresaliente semejanza entre el conjunto químico y la sustancia de prueba, porque estos (los *cocientes de verosimilitud*) están expresados en los términos genéricos representados por la SEN y SPEC del bioensayo en cuestión [55]. Al respecto. La SEN y SPEC de un bioensayo pueden ser estimadas desde un conjunto químico que carezca de sobresaliente semejanza con la *sustancia de prueba*, y, mediante el procedimiento *probabilidad de verosimilitud*, podemos usar la predictividad proporcionada por tal SEN y SPEC para aproximarnos al valor predictivo del resultado entregado por dicho bioensayo para una determinada sustancia [55]. Para que las probabilidad de verosimilitud tenga relevancia predictiva, debe cumplirse que: « el conjunto químico en el que se basa el *cociente de verosimilitud*, al menos, sea moderadamente representativo de la *sustancia de prueba* » [55].

$$\text{PVP} = (1 - \text{valor } p; \text{LR} +) \times 100\% \quad (21)$$

$$\text{PVN} = (1 - \text{valor } p; \text{LR} -) \times 100\% \quad (22)$$

10.2. Estimación de la probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* de varios fármacos, drogas, y otras sustancias de interés

10.2.1. Selección de los agentes químicos

Para estimar los *valores predictivos positivos* (VPPs), y las *probabilidades de verosimilitud positiva* (PVPs) de los resultados entregados por el RCB para las sustancias del *objetivo específico #3*, seleccionamos sustancias que cumplieren con las siguientes características. Primero, haber resultado positivas **(1)** en el RCB, o **(2)** en los NC-RCBs extrapolables, según los criterios especificados en la *sección 9.3.3*. Segundo, ser clasificables como *mutágenos* (es decir, poseer *mutagenicidad*). Tercero, **(1)** poseer *limitada o inadecuada* (ambas son insuficiente) evidencia epidemiológica de la posible carcinogenicidad de la sustancia en humanos, según las evaluaciones de la IARC, el U.S. NTP, o la U.S. EPA, o **(2)** ser una sustancia aún no evaluada por dichas instituciones. La *mutagenicidad* menciona la habilidad connatural de algunas sustancias de, en condiciones de exposición lo suficientemente riesgosas, incrementar la incidencia de mutaciones en varios de los mamíferos expuestos a estos mutágenos (p. ej., ratas, ratones, lagomorfos, otros animales de laboratorio, y humanos).

Para estimar la *probabilidad numérica de carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias del *objetivo específico #3*, entonces, seleccionamos a la *mutagenicidad* como único criterio toxicológico de inclusión. Por lo tanto, trabajamos con una sola clase toxicológica (la de los *mutágenos*) para cumplir con el *objetivo específico #3*. Sin embargo, trabajando sólo con mutágenos, esta tesis abarcó los siguientes tipos de sustancias para cumplir con el *objetivo específico #3*: **(1)** varios fármacos de la medicina humana; **(2)** algunos fármacos de la medicina veterinaria; **(3)** varias drogas de potencial interés en medicina humana o veterinaria, y **(4)** algunas otras sustancias de interés toxicológico (*Tabla 17*; *Tabla 19*). Restringir el *objetivo específico #3* a los mutágenos, se aplicó aquí con la finalidad de **(1)** desplegar mayor eficiencia, cubriendo así el mayor número de sustancias relevantes para la sociedad en el tiempo disponible para finalizar esta tesis, y **(2)** porque la *mutagenicidad* es un

modo de acción carcinogénica ampliamente aceptado como operante (u operativo) en humanos [76,77]. Al trabajar sólo con sustancias mutagénicas para cumplir con el **objetivo específico #3**, esta tesis evitó incurrir en extrapolaciones relacionadas con la relevancia (o insignificancia) para la salud humana de los otros *modos de acción carcinogénica* distintos a la mutagenicidad; en referencia a las sustancias que resultaron carcinogénicas en el RCB, pero de las que se desconoce su carcinogenicidad para los humanos en términos epidemiológicos.

Extrapolar sobre la relevancia (o insignificancia) para la salud humana de los otros *modos de acción carcinogénica* distintos a la mutagenicidad, habría impuesto niveles adicionales de complejidad y controversia alrededor de esta tesis. Niveles adicionales de controversia fueron considerados aquí como indeseables, ya que el indagar sobre la toxicidad de las sustancias mediante *valores predictivos* o *probabilidades de verosimilitud*, no hace parte del paradigma actual en ninguna de las áreas directamente relacionadas con esta tesis (p. ej., la toxicología preclínica, la toxicología predictiva, o la toxicología reguladora). Por lo anterior, esta tesis optó por introducir dichas aproximaciones probabilísticas (p. ej., el uso de los valores predictivos) mediante sustancias que, cualitativamente, ya son consideradas por la comunidad toxicológica como *potencialmente carcinogénicas para los humanos*. Realizamos una búsqueda libre (es decir, no-sistemática, y de ruta no registrada) para identificar la mayor cantidad de *mutágenos con resultados positivos en el RCB* relevantes para la sociedad.

10.2.2. Identificación de la *mutagenicidad* de las sustancias

En la actualidad, existe una constelación de sustancias (incluyendo fármacos autorizados, y otros principios activos aún no-aprobados) ampliamente estudiadas en términos de **(1)** carcinogénesis química en humanos (según la epidemiología analítica); **(2)** carcinogénesis química en roedores (mediante el RCB o los NC-RCBs extrapolables), y **(3)** en materia de mutagénesis química, ya sea en humanos o roedores (p. ej., mediante las pruebas validadas de *toxicología genética*). Actualmente, dicha constelación es lo suficientemente grande como para que la toxicología moderna haya identificado un nutrido subconjunto de sustancias que son tanto mutagénicas como carcinogénicas en los humanos. Precisamente, dicho subconjunto de sustancias fue la base sobre la cual esta tesis estimó la sensibilidad del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* (Tabla 16; Tabla A1, y Tabla A4). En la comunidad toxicológica, las sustancias que hacen parte de ese subconjunto químico son actualmente consideradas como *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* (o, alternativamente, *mutágenos carcinogénicos para el ser humano*) [41,43,57-59,74,75].

Para identificar con confianza criterios que permitiesen reconocer la *mutagenicidad* de las sustancias elegibles para cumplir con el **objetivo específico #3**, buscamos patrones en el comportamiento (es decir, en los resultados) de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* en las distintas pruebas de genotoxicidad a las que han sido sometidos en la literatura (Tabla A2). Para ello, tabulamos los resultados de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* (hasta ahora conocidos mediante epidemiología analítica) en las pruebas más aceptadas de la toxicología genética (Tabla A2). Para reconocer el resultado binario (p. ej., positivo vs. negativo; clastogénico vs. no-clastogénico) de un determinado *carcinógeno de humanos* en una prueba de genotoxicidad particular, se siguió una aproximación del tipo *peso de la evidencia* (WoE), como se explicó en la **sección 9.3.3**. Al respecto, la **Tabla 12** presenta las fuentes de información consultadas por esta tesis para conocer los desenlaces de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* en las pruebas de genotoxicidad consideradas en la **Tabla A2**.

Una vez construida la [Tabla A2](#), visualmente, identificamos en ella distintos patrones de comportamiento (o de resultados) para los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* en dichas pruebas de genotoxicidad ([Tabla 6](#)). Determinando la prevalencia (proporción, o frecuencia relativa) de los distintos patrones de comportamiento genotóxico en el conjunto de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, esta tesis indagó sobre la validez de dichos patrones como criterios para identificar la *mutagenicidad* de las sustancias ([Tabla 11](#)). Según dicha validación ([Tabla A3](#)), como sustancias mutagénicas (o *mutágenos*), esta tesis identificó aquellas que cumplieron con al menos uno de los siguientes criterios de la [Tabla 11](#): *Criterio #1*; *Criterio #2*. En tal sentido, las [Tablas A8](#) y [A9](#) presentan los resultados, tanto en las pruebas de genotoxicidad como en el RCB, de las sustancias que fueron seleccionadas aquí en ocasión del *objetivo específico #3* ([Tabla 17](#)).

Tabla 11. Prevalencia* de los criterios usados aquí para reconocer la *mutagenicidad* de los químicos ([Tabla 6](#))

Criterio	Descripción	Prevalencia
No. 1	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> o <i>in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i>) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 2 bioensayos distintos que cubran cualquiera de los dos modos de acción; p. ej., 2 bioensayos de clastogénesis <i>in vivo</i>).	92% (34)
No. 2	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> o <i>in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i>) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vitro</i> (al menos, mediante 2 bioensayos distintos que cubran cualquiera de los dos modos de acción; p. ej., 1 bioensayo de clastogénesis <i>in vitro</i> y 1 bioensayo de daño al ADN <i>in vitro</i>) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo <i>in vivo</i> dedicado a cualquiera de los dos modos de acción).	84% (31)
No. 3	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> (al menos, mediante 1 bioensayo) + Evidencia de <i>Mutagenicidad in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo dedicado cualquiera de los dos modos de acción).	57% (21)
No. 4	Evidencia de <i>Clastogénesis</i> y <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 3 bioensayos distintos que, en conjunto, abarquen los dos modos de acción; p. ej., 2 bioensayos de clastogénesis <i>in vivo</i> y 1 bioensayo daño al ADN <i>in vivo</i>).	38% (14)
No. 5	Evidencia de <i>Mutagenicidad in vitro</i> o <i>in vivo</i> (al menos, mediante 2 bioensayos; Ejemplo #1: 1 bioensayo <i>in vitro</i> y 1 bioensayo <i>in vivo</i> ; Ejemplo #2: 2 bioensayos <i>in vitro</i>) + Evidencia de <i>Clastogénesis</i> o <i>Daño al ADN in vivo</i> (al menos, mediante 1 bioensayo dedicado a cualquiera de los dos modos de acción)	62% (23)

Entre paréntesis: el número de *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* con resultados de toxicología genética consistentes con el criterio en cuestión. ***Prevalencia:** proporción de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* que presentan el patrón de genotoxicidad (es decir, el criterio de identificación de la mutagenicidad) en cuestión.

Tabla 12. Fuentes de información consultadas para conocer los resultados de determinadas sustancias en las pruebas de toxicología genética (t.c.c. pruebas de genotoxicidad)

<i>IARC Monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans.</i> [57]	<i>U.S. NTP Chemical Effects in Biological Systems (CEBS).</i> [64]
<i>U.S. NTP 14th Report on Carcinogens.</i> [59]	<i>EURL ECVAM Genotoxicity and Carcinogenicity Consolidated Database.</i> [65]

(continúa)

Tabla 12. Fuentes de información consultadas para conocer los resultados de determinadas sustancias en las pruebas de toxicología genética (t.c.c. pruebas de genotoxicidad) (*continuación*)

U.S. NLM Hazardous Substances Data Bank. [60]	U.S. FDA Prescribing Information (or Labels). [67].
U.S. NLM Chemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS). [62]	U.S. FDA Approval Package – Pharmacology Review. [67]
U.S. NLM Genetic Toxicology Data Bank (GENE-TOX). [63]	

10.2.3. Computación (de los VPPs y de las PVPs)

Esta tesis se planteó como **tercer objetivo específico**: « Estimar la *probabilidad de carcinogenicidad innata para los humanos* de sustancias específicas que resultaron carcinogénicas en el RCB ». Para las sustancias seleccionadas en ocasión del **objetivo específico #3** (Tabla 17), la probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* se estimó aquí mediante dos aproximaciones distintas **(1)** el *valor predictivo positivo (VPP; sección 10.1)*, y **(2)** la *probabilidad de verosimilitud positiva (PVP, sección 10.1)*. El VPP se calculó aplicando la **Ecuación #6**. En tal sentido, dependiendo de: « en cual configuración del RCB (p. ej., el RCB-ratón) fueron ensayados los agentes químicos aquí seleccionados para cumplir con el **objetivo específico #3**, fue como determinamos cuales cifras emplear para computar la **Ecuación #6** ». Por ejemplo, en el caso de las sustancias del **objetivo específico #3** que fueron ensayadas sólo en el RCB-rata: de 39 *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, 39 resultaron positivos en el RCB-rata (Tabla A1). Para efectos de la **Ecuación #6**, lo anterior aportó un total de 39 *verdaderos positivos*. Por su parte, la **Tabla A7** muestra 4 *no-carcinógenos de humanos* que resultaron positivos a carcinogénesis química en el RCB-rata, aportando a la **Ecuación #6** un total de 4 *falsos positivos*.

Para los 52 *mutágenos* blanco del **objetivo específico #3**, en la **Ecuación #6**, se aplicaron entonces los siguientes datos **(a)** 39, como numerador (es decir, 39 *verdaderos positivos*), y **(b)** 43, como denominador (es decir, 39 *verdaderos positivos* + 4 *falsos positivos*). Según dicha aproximación, el *valor predictivo* (VPP) del resultado positivo entregado por el RCB para los 52 agentes químicos del **objetivo específico #3**, es igual a **90.6%**. Esta tesis consideró dicho VPP incorrecto, porque, según el siguiente argumento, los 4 *falsos positivos* mencionados anteriormente no son representativos de las 52 sustancias blanco del **objetivo específico #3**. A saber, mientras que esos 4 *falsos-positivos* tienen suficiente evidencia de que *carecen de genotoxicidad* (Tabla A7), las 52 sustancias del **objetivo específico #3** tienen suficiente evidencia de que son genotóxicas (Tabla A9). Adicionalmente, aplicar la **Ecuación #6** se complicó debido al desconocimiento acerca de: « la existencia de *mutágenos* que carezcan de *carcinogenicidad innata para los humanos*, y, que por lo tanto, hayan resultado en *falsos-positivos* entregados por el RCB ».

En ese punto, esta tesis visualizó dos opciones **(1)** en la **Ecuación #6**, asumir 0 *falsos-positivos* (sin suficiente evidencia empírica o teórica de esto), lo que habría derivado en un VPP igual a 100%, o **(2)** apelar a una opción estadística más precisa. Respecto de la segunda opción, Suarez-Torres y col. [55] analizaron las bases que permiten concluir que: « la *inferencia Bayesiana* optimiza la floja (o laxa) predictividad deducible (vía valores predictivos) cuando **(1)** el *conjunto químico* (desde el cual identificar a los verdaderos positivos, falsos negativos, etc.) carece de sobresaliente semejanza con la *sustancia de prueba*, y **(2)** el *desempeño predictivo* del bioensayo preclínico sólo se puede estimar desde un conjunto químico que carece de destacada similitud con dicha

sustancia de prueba ». Basado en la demostración matemática presentada por Suarez-Torres y col. [55], la *inferencia Bayesiana* propone a las [Ecuaciones #23](#) y [#24](#) como alternativas matemáticamente válidas para calcular el VPP. A esta otra alternativa al Pronóstico Directo ([sección 10.1](#)), la hemos llamado el Pronóstico Bayesiano [55]. En la [Ecuación #24](#), la laxa (o floja) predictividad* proporcionada por la SEN y SPEC del bioensayo (p. ej., la SEN y SPEC estimadas desde conjuntos químicos que carecen de sobresaliente semejanza con la *sustancia de prueba*) es matemáticamente optimizada por la predictividad que se obtiene al considerar también el comportamiento histórico (es decir, los resultados históricos), en el *estándar de referencia* (simulado por el bioensayo preclínico), de otros agentes químicos francamente similares a la *sustancia de prueba* [55].

$$\text{VPP Bayesiano} = P(\text{RS} + | \text{BIOASSAY} +) = \frac{\text{ODDS}(\text{RS} + | \text{BIOASSAY} +)}{1 + \text{ODDS}(\text{RS} + | \text{BIOASSAY} +)} \quad (23)$$

Donde,

$$\text{ODDS}(\text{RS} + | \text{BIOASSAY} +) \approx \frac{\text{SEN}}{1 - \text{SPEC}} \times \frac{P(\text{RS} +)}{1 - P(\text{RS} +)} \quad (24)$$

En la [Ecuación #24](#), el comportamiento previo (es decir, los resultados ya conocidos) en el *estándar de referencia* de los *análogos* de la *sustancia de prueba*, es expresado por el término **P(RS+)** (Nota: los *análogos* de la *sustancia de prueba*, son químicos francamente similares a dicha *sustancia de prueba*). Precisamente, en la [Ecuación #24](#), el término **P(RS+)** expresa: « la probabilidad, independiente tanto de la predictividad como de los resultados del bioensayo preclínico, de que la *sustancia de prueba* sea positiva al respectivo estándar de referencia » [55]. Al respecto, el término **P(RS+)** se puede estimar como: la prevalencia (o proporción) de positividad al respectivo *estándar de referencia*, en una categoría (o conjunto químico) con sobresaliente representatividad hacia la *sustancia de prueba* [55]. La [Tabla A2](#) muestra que: de 39 sustancias **(1)** con los patrones de genotoxicidad #1 o #2 ([Tabla 11](#)), y **(2)** con adecuada evidencia epidemiológica acerca de su posible carcinogenicidad innata para los humanos, el 100% de esos 39 agentes químicos son *carcinógenos de humanos*.

Además, la [Tabla A9](#) muestra que las 52 sustancias del [objetivo específico #3](#) presentaron los patrones de genotoxicidad #1 o #2 ([Tabla 11](#)). Lo anterior permite estimar que, para los agentes químicos del [objetivo específico #3](#), el término **P(RS+)** equivale a 1 (o 100%) [74,75]. Sin embargo, bajo la presunción de que algunos *mutágenos con minúscula potencia mutagénica* podrían carecer de carcinogenicidad innata para los humanos, arbitrariamente, el término **P(RS+)** de la [Ecuación #24](#) se aproximó aquí a 0.99 (o 99%). En adición, permítame aclarar que: en la [Ecuación #21](#) (para el cálculo de la PVP), y en la [Ecuación #24](#) (para el cálculo del *VPP bayesiano*), aplicamos la cifra de la SEN del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* [74,75].

Específicamente, en el caso de las sustancias del [objetivo específico #3](#) (que han sido) ensayadas sólo en el RCB-rata ([Tabla A8](#)), en las [Ecuaciones #13](#) y [#24](#), aplicamos **(1)** 97.3% de SEN ([Tabla 16](#)), y **(2)** 95.2% de SPEC ([Tabla 16](#)). En el caso de las sustancias del [objetivo específico #3](#) ensayadas en el RCB de 2-especies o, alternativamente, ensayadas sólo en el RCB-ratón, aplicamos **(1)** 97.2% de sensibilidad ([Tabla 16](#)), y **(2)** 99.0% de especificidad ([Tabla 16](#)). Ahora, algunas aclaraciones al respecto. En el caso de las sustancias del [objetivo específico #3](#) (que fueron) ensayadas en el RCB de 2-especies, esta tesis aplicó las cifras de *desempeño*

*Predictividad: Grado en el que algo es predictivo, es decir, el grado en el que algo es un predicto acertador.

predictivo (p. ej., la SEN; la SPEC) del RCB-ratón porque, de las 4 *cifras de desempeño predictivo* disponibles (a saber, las del RCB-rata; las del RCB-ratón; las del RCB de 2-especies Config. #1; y las del RCB de 2-especies Config. #2; Figs. 2 - 4), las cifras del RCB-ratón se consideraron aquí como los más predictivas de las cuatro (Tabla 16) (además, considerando que la utilidad predictiva del VPP y PVP depende principalmente de la SPEC). Para las sustancias ensayadas en el RCB de 2-especies, acabamos de mencionar 4 opciones de SEN y SPEC disponibles porque, en materia probabilística, los resultados de un mismo bioensayo preclínico pueden interpretarse de X formas alternativas (cada una con una utilidad predictiva potencialmente distinta), si conocemos el *desempeño predictivo* de las X configuraciones alternativas de ese bioensayo preclínico (si bien este es un razonamiento cuya validez pretendemos demostrar en un futuro trabajo académico).

En el caso de las sustancias del **objetivo específico #3** ensayadas en el RCB de 2-especies, o ensayadas sólo en el RCB-ratón, en las **Ecuaciones #13 y #24** se aplicó 99.0% de SPEC (en vez del 100% de SPEC observada aquí para el RCB-ratón; **Tabla 16**): **(1)** para ajustar la *especificidad* del RCB-ratón a una cifra que brinde predicciones más realistas, y **(2)** porque las **Ecuaciones #13 y #24** resultan matemáticamente incalculables cuando la SEN o SPEC toman valores iguales a 100%. En el caso de las sustancias del **objetivo específico #3** ensayadas sólo en el RCB-rata por vía oral, en las **Ecuaciones #13 y #24**, aplicamos 97.3% de SEN (es decir, la SEN de la combinación de las dos vías de exposición; **Tabla 16**), particularmente, para ajustar la SEN de la vía oral del RCB-rata a una cifra más realista. Lo anterior porque, al estar estimada según el doble de *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* que la SEN de la vía oral del RCB-rata, la SEN observada aquí para la combinación de las dos vías de exposición nos aproximaría mejor a la real SEN de la vía oral del RCB-rata.

En el caso de las sustancias del **objetivo específico #3** ensayadas en el RCB de 2-especies, o sólo en el RCB-ratón, también se aplicó aquí la SEN (hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*) de la combinación de las dos vías de exposición, precisamente, por los motivos recién comentados para el caso de las sustancias del **objetivo específico #3** ensayadas sólo en el RCB-rata. Es importante resaltar que las distintas cifras de especificidad (SPEC) aplicadas en las **Ecuaciones #13 y #24** correspondieron a: « la *especificidad* del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (**Tabla 16**; **Tabla A7**) ». En tal sentido, hasta ahora, esta **sección 10.2** ha cubierto la metodología empleada por esta tesis estimar la *probabilidad numérica de carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias (del **objetivo específico #3**) identificadas en esta tesis como *mutagénicas*. Con razón, el lector podría entonces preguntarse lo siguiente: en las **Ecuaciones #13 y #24**, ¿Por qué no aplicar la *especificidad* del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*?

En las **Ecuaciones #13 y #24**, no fue posible aplicar la SPEC del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, porque no pudimos calcular dicha SPEC (**Ecuación #4**). No pudimos calcular dicha SPEC, porque todas las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos* carecen de mutagenicidad y genotoxicidad (**Tabla A7**). De ese modo, esta tesis no encontró mutágenos que carezcan de carcinogenicidad innata para los humanos (p. ej., desde los cuales identificar a los *falsos-positivos*, etc.; **Ecuación #4**). Ahora bien, se sabe que los *carcinógenos de tipo mutagénico (1)* suelen actuar mediante *mecanismos de acción carcinogénica* que operan en múltiples especies de mamíferos, y **(2)** generalmente, tienen una mayor potencia carcinogénica que los *carcinógenos de tipo no-mutagénico* [83,84]. Como los *carcinógenos de tipo mutagénico* suelen tener mayor potencia carcinogénica, y una mayor amplitud de especies susceptibles que los *carcinógenos no-mutagénicos* [83,84], se consideró aquí mucho menos probable que los *mutágenos positivos al RCB* carezcan de *carcinogenicidad innata para los humanos*, comparado con los no-mutágenos positivos al RCB.

Entonces, resulta razonable esperar que el RCB entregue una mayor tasa de *falsos-positivos* por cuenta de los “*no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*,” en comparación con los “*no-carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*.” Así, esta tesis anticipó que la “SPEC del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*” sería *menor o igual* (\leq) que su “SPEC hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*” [74,75]. Considerando que, para el RCB, esta tesis estimó una elevada “SPEC hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*” (a saber, una SPEC > 95%; [Tabla 16](#)), esta tesis asumió que: « la “SPEC del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*” puede usarse como un sustituto funcional y predictivo de la “SPEC del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*” [74,75].

10.3. Estimación de la probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos de varias drogas y sustancias de interés*

10.3.1. Selección de los agentes químicos

Para cumplir con el [objetivo específico #4](#), esta tesis seleccionó sustancias que cumplieren con las siguientes características. Primero, no haber resultado carcinogénicas en *estudios de carcinogénesis química en roedores* (a saber, en RCBs o NC-RCBs extrapolables) conducidos de acuerdo con los criterios especificados en la [sección 9.3.3](#). Segundo, ser atribuibles a una misma categoría toxicológica que las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ([Tabla A7](#)). El requerimiento de la segunda característica se debió a que, en el cálculo de los *valores predictivos y probabilidades de verosimilitud* ([sección 10.1](#)), la adecuación de las [Ecuaciones #8 y #22](#), respectivamente, depende de haya moderada o sobresaliente semejanza entre: **(1)** los *conjuntos químicos* en los que se basa el *desempeño predictivo* del RCB, y **(2)** la *sustancia de prueba* de la que se quiere figurar el VPN o PVN del resultado (negativo) entregado por el RCB [55].

Acercas de las sustancias en las que esta tesis basó la SPEC del RCB ([Tabla A7](#)), sus más principales características se pueden agrupar de la siguiente manera: **(1)** carecen de mutagenicidad y genotoxicidad (Criterio #1), y **(2)** poseen robusta evidencia mecanicista de que *carecen de carcinogenicidad innata para los humanos* (Criterio #2) ([sección 9.4.2](#)). En principio, cualquiera de esos dos criterios pueden ser usados para seleccionar a las sustancias del [objetivo específico #4](#) de esta tesis. Con respecto del primer criterio (a saber, Mutagenicidad y/o Genotoxicidad), actualmente, existe un nutrido número de bioensayos que, en conjunto y con razonable confianza, permiten identificar (o descartar) la genotoxicidad de los agentes químicos.

En cambio, para cumplir con el [objetivo específico #4](#) (a saber, estimar la probabilidad numérica de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos de varias sustancias específicas*), la aplicación del Criterio #2 (es decir, “robusta evidencia mecanicista de carencia de carcinogenicidad innata para los humanos”) resultó inconveniente porque, según la metodología de la [sección 9.4.2](#), las sustancias que cumplen con el Criterio #2 ya puede ser reconocidas como *no carcinogénicas para los humanos*, sin necesidad de recurrir a su ensayo en el RCB, ni a la técnica de los *valores predictivos o probabilidades de verosimilitud*. Después de descartar el Criterio #2 para la selección de las sustancias blanco del [objetivo específico #4](#), esta tesis reconoció la existencia de varias sustancias que **(1)** son relevantes para la sociedad (p. ej., fármacos de la medicina humana; colorantes

de alimentos, medicamentos, y cosméticos; drogas pesticidas); **(2)** que resultaron negativas a carcinogénesis química en el RCB; **(3)** que poseen razonable evidencia de que carecen de mutagenicidad y genotoxicidad, y **(4)** de las que hay insuficiente evidencia mecanicista como para ser automáticamente reconocidas como *no-carcinógenos de humanos*. Esta tesis consideró que, figurar la probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de estas sustancias (Tabla A10), representaría una mayor contribución comparado con continuar identificando más sustancias con *suficiente evidencia mecanicista de carencia de carcinogenicidad para los humanos*, aparte de los 92 *no-carcinógenos de humanos* ya identificados mediante ese criterio (Tabla A7).

10.3.2. Categorización de las sustancias

Esta tesis hipotetizó que: « La ausencia de (incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de) lesiones histopatológicas de tipo pre-neoplásico en RCBs », sería otro excelente indicador de una significativa semejanza entre **(1)** el conjunto químico en el que basamos la SPEC del RCB, y **(2)** las sustancias seleccionadas para cumplir con el **objetivo específico #4** (Tabla A10). Por su exhaustiva y sistemática *examinación histopatológica* que **(1)** es efectuada en todos los roedores de, por lo menos, el grupo *control negativo concurrente* y el grupo *expuesto a la mayor dosis*, y **(2)** que incluye un largo catálogo de *lesiones no-neoplásicas* (abarcando varios tipos de lesiones pre-neoplásicas) en un amplio rango de órganos, el RCB es el método preclínico con la mayor sensibilidad para detectar los posibles cambios en la *incidencia de las lesiones pre-neoplásicas*, infligidas por las sustancias con tal habilidad [8,9,13,72]. Pusimos a prueba la mencionada hipótesis mediante la siguiente validación. Esta tesis revisó primero las publicaciones que reportaban el ensayo en el RCB, de las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (Tabla A7). Encontramos así que, de 64 sustancias **(1)** identificadas aquí (mediante toxicología mecanicista) como *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (identificación independiente de sus datos de histopatología en pruebas de toxicidad crónica en animales de laboratorio, incluyendo al RCB) (Tabla 13; Tabla A7), y **(2)** ensayadas en *estudios de carcinogénesis química en roedores* con suficiente poder estadístico como para detectar incrementos significativos en la *incidencia de lesiones pre-neoplásicas*, sólo uno de ellas suscitó tal incremento (Tabla 13).

Tabla 13. Estimación de la *sensibilidad* del criterio ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en RCBs~ hacia las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos* (identificación independiente de los datos de histopatología en pruebas preclínicas de toxicidad crónica, incluidos los RCBs)

#	No-carcinógeno de humano	Lesión PN	Identificable como NCH ¥	#	No-carcinógeno de humanos	Lesiones PN	Identificable como NCH ¥
1	<i>Acacia gum</i>	No	Sí	33	<i>D-Sorbitol</i>	No	Sí
2	<i>Acetylated distarch glycerol</i>	No	Sí	34	<i>Starch sodium octenyl succinate</i>	No	Sí
3	<i>Adipic acid</i>	No	Sí	35	<i>Sucrose</i>	No	Sí
4	<i>Alginate acid</i>	No	Sí	36	<i>Sucrose acetate isobutyrate</i>	No	Sí
5	<i>Ascorbic acid</i>	No	Sí	37	<i>S-170 (Ryoto™)</i>	No	Sí
6	<i>Aspartame</i>	No	Sí	38	<i>S-570 (Ryoto™)</i>	No	Sí

(continúa)

Tabla 13. Estimación de la *sensibilidad* del criterio ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en RCBs~ hacia las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos* (identificación independiente de los datos de histopatología en bioensayos preclínicos de toxicidad crónica, incluidos los RCBs) (*continuación*)

#	No-carcinógeno de humano	Lesión PN	Identificable como NCH ¥	#	No-carcinógenos de humanos	Lesión PN	Identificable como NCH ¥
7	<i>Caramel</i>	No	Sí	39	<i>Tamarind seed gum</i>	No	Sí
8	<i>Carob gum</i>	No	Sí	40	<i>Tara gum</i>	No	Sí
9	<i>beta-Carotene</i>	No	Sí	41	<i>alpha-Tocopherol</i>	No	Sí
10	<i>Carrageenan (native)</i>	No	Sí	42	<i>Tragacanth gum</i>	No	Sí
11	<i>Citric acid</i>	No	Sí	43	<i>Triglycerides of fatty acids</i>	No	Sí
12	<i>C.I. Food Orange 6</i>	No	Sí	44	<i>Trimethylglycine</i>	No	Sí
13	<i>beta-Cyclodextrin</i>	No	Sí	45	<i>L-Tryptophan</i>	No	Sí
14	<i>Diacylglycerol</i>	No	Sí	46	<i>Xylitol</i>	No	Sí
15	<i>Ethyl methyl cellulose</i>	No	Sí	47	<i>D-Xylose</i>	No	Sí
16	<i>Gellan gum</i>	No	Sí	48	<i>Acetylated distarch phosphate</i>	No	Sí
17	<i>L-Glutamic acid</i>	No	Sí	49	<i>Benzyl acetate</i>	No	Sí
18	<i>Glycerine</i>	No	Sí	50	<i>Benzyl alcohol</i>	No	Sí
19	<i>Guar gum</i>	No	Sí	51	<i>Cocoa powder</i>	No	Sí
20	<i>Hydrogenated starch hydrolysates</i>	No	Sí	52	<i>Emulsifier YN</i>	No	Sí
21	<i>Hydroxypropyl distarch phosphate</i>	No	Sí	53	<i>Hydroxypropyl distarch glycerol</i>	No	Sí
22	<i>Hydroxypropyl methyl cellulose</i>	No	Sí	54	<i>Isomalt</i>	No	Sí
23	<i>Lactose</i>	No	Sí	55	<i>Lactic acid</i>	No	Sí
24	<i>Lecithin</i>	No	Sí	56	<i>Lactitol</i>	No	Sí
25	<i>Methyl cellulose</i>	No	Sí	57	<i>Lithocholic acid</i>	No	Sí
26	<i>Oxystearin</i>	No	Sí	58	<i>Maltitol</i>	No	Sí
27	<i>Polyglycerol esters of fatty acids</i>	No	Sí	59	<i>D-Mannitol</i>	Sí	Sí
28	<i>Polyglycerol polyricinoleate</i>	No	Sí	60	<i>Neosugar®</i>	No	Sí
29	<i>Propionic acid</i>	No	Sí	61	<i>Phosphated distarch phosphate</i>	No	Sí
30	<i>Propyl gallate</i>	No	Sí	62	<i>all-trans-Retinol</i>	No	Sí
31	<i>Propylene glycol</i>	No	Sí	63	<i>Starch acetate (Acetylated starch)</i>	No	Sí

(continúa)

Tabla 13. Estimación de la *sensibilidad* del criterio ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en RCBs~ hacia las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos* (identificación independiente de los datos de histopatología en bioensayos preclínicos de toxicidad crónica, incluidos los RCBs) (*continuación*)

#	No-carcinógeno de humano	Lesión PN	Identificable como NCH ¶	#	No-carcinógeno de humanos	Lesiones PN	Identificable como NCH ¶
32	<i>Sorbic acid</i>	No	Sí	64	<i>Triphosphate</i>	No	Sí
Validación (Nota: sólo RCBs conducidos empleando la ruta oral de administración de las sustancias)							
Sensibilidad = Número de <i>no-carcinógenos de humanos</i> con datos de histopatología pre-neoplásica negativa ÷ Número total de <i>no-carcinógenos de humanos</i> con datos de histopatología pre-neoplásica disponibles = 63/64 = 0.984 × 100% = 98.4%							

¶ **NCH:** De acuerdo a los datos mecanicistas mostrados en la [Tabla A7](#), y al método explicado en la [sección 9.4.2](#), la sustancia en cuestión fue identificada en esta tesis como *no-carcinogénica para humanos* [dicha identificación no se basó en datos de toxicidad crónica (p. ej., lesiones histopatológicas) de la sustancia en animales de experimentación];
 § **Lesión PN:** Incremento estadísticamente significativo de la incidencia de lesiones (histopatológicas) pre-neoplásicas en el RCB, alternativamente, ausencia de cambios estadísticamente significativos en la incidencia de dichas lesiones en el RCB; **Número total de no-carcinógenos de humanos con datos de histopatología pre-neoplásica disponibles:** Total de sustancias (1) identificadas en esta tesis como *no-carcinógenos de humanos* (identificación independiente de los resultados histopatológicos de esas sustancias en bioensayos preclínicos de toxicidad crónica), y, a su vez (2) sustancias que fueron ensayadas en RCBs en los que se realizó una exhaustiva examinación histopatológica en busca de lesiones pre-neoplásicas; **Número de no-carcinógenos de humanos con datos de histopatología pre-neoplásica negativa:** Número de sustancias (1) identificadas en esta tesis como *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (identificación independiente de los resultados histopatológicos de esas sustancias en pruebas preclínicas de toxicidad crónica), y, a su vez (2) sustancias cuyo ensayo en el RCB concurrió con la ausencia de incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas.

Para el criterio **Ausencia (de incrementos estadísticamente significativos en la incidencia) de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB**, lo anterior resultó en un excelente 98.4% de sensibilidad hacia los *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ([Tabla 13](#)). Luego, aterrizó la pregunta: « Aunque la ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~ se mostró aquí como un criterio claramente sensible para con los *no-carcinógenos de humanos*, ¿Es la *especificidad* de la ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCBs~ lo suficientemente alta como para ser este un criterio confiable para optimizar la predictividad de los resultados negativos entregados por el RCB? ». Para abordar dicha pregunta, esta tesis revisó las publicaciones que reportaban el ensayo en el RCB de las sustancias identificadas aquí como **carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico** (a saber, las sustancias en las que esta tesis basó la SEN del RCB hacia ese tipo de *carcinógenos de humanos*) ([Tabla A5](#)).

Encontramos que, de 39 sustancias **(1)** identificadas aquí (mediante epidemiología analítica) como **carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico**, particularmente, mediante una identificación independiente de los datos de histopatología en pruebas preclínicas de toxicidad crónica (incluyendo al RCB), y **(2)** ensayadas en *estudios de carcinogénesis química en roedores* con suficiente poder estadístico como para detectar incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas, sólo cuatro (es decir, el 10.3%) de ellas concurrieron con la *ausencia de lesiones pre-neoplásicas en el RCB* ([Tabla 14](#)). Para el criterio ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~, lo anterior resultó en un aceptable 89.7% de especificidad hacia los *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ([Tabla 14](#)). A nuestro juicio, el desempeño del criterio

Tabla 14. Estimación de la *especificidad* de la ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~ hacia las sustancias identificadas en esta tesis como *no-carcinógenos de humanos* (identificación independiente de los datos de histopatología en bioensayos preclínicos de toxicidad crónica, incluidos los RCBs)

#	Carcinógeno de humanos de tipo de no-mutagénico	Incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el	
		RCB-rata	RCB-ratón
<i>RCBs conducidos empleando la ruta oral de administración de las sustancias</i>			
1	<i>Sodium arsenite</i>	– (sin aumentos en la incidencia)	
2	<i>Sodium arsenate</i>	– (sin aumentos en la incidencia)	
3	<i>Lead arsenate</i>	– (sin aumentos en la incidencia)	
4	<i>Chrysotile asbestos</i>	– (sin aumentos en la incidencia)	
5	<i>Diethylstilbestrol</i>		Adenosis cervical §
6	<i>Ethinylestradiol + Drospirenone</i>	Foco de alteración (eosinofílica) hepatocelular	
7	<i>Quinestrol + Quingestanol</i>	Metaplasia escamosa y atipia celular en glándula mamaria	
8	<i>Estradiol</i>		Adenosis cervical §
9	<i>Ethinylestradiol</i>	Metaplasia escamosa y atipia celular mamaria	
10	<i>Mestranol</i>	Foco de alteración hepatocelular	
11	<i>Tamoxifen</i>	Metaplasia escamosa y atipia celular en el útero	
<i>RCBs conducidos empleando la ruta inhalatoria de administración de las sustancias</i>			
12	<i>Gallium arsenide</i>	Metaplasia e hiperplasia atípica en los pulmones	– (sin aumento)
13	<i>Amosite asbestos</i>	Hiperplasia adenomatosa y metaplasia pulmonar	
14	<i>Anthophyllite asbestos</i>	Metaplasia a célula cuboidal en los pulmones	
15	<i>Chrysotile asbestos</i>	Metaplasia a célula cuboidal en los pulmones	
16	<i>Crocidolite asbestos</i>	Metaplasia a célula cuboidal en los pulmones	
17	<i>Tremolite asbestos</i>	Hiperplasia adenomatosa (atípica) en pulmones	
18	<i>Metallic beryllium</i>	Metaplasia escamosa y de célula cuboidal en pulmones	
19	<i>Beryllium dihydroxide</i>	Metaplasia de célula cuboidal y célula columnar en pulmones	
20	<i>Beryllium sulfate tetrahydrate</i>	Metaplasia del epitelio alveolar (en pulmones)	
21	<i>Cadmium dichloride</i>	Hiperplasia adenomatosa (atípica) en pulmones	
22	<i>Crystalline silica</i>	Metaplasia escamosa pulmonar	
23	<i>Erionite</i>	Metaplasia en el mesotelio pleural	
24	<i>Lindane</i>		Hiperplasia atípica hepatocelular
25	<i>Nickel monoxide</i>	Hiperplasia atípica pulmonar	Metaplasia del epitelio alveolar
26	<i>Nickel subsulfide</i>	Hiperplasia atípica pulmonar	– (sin aumento)

(continúa)

Tabla 14. Estimación de la *especificidad* de la ~Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~ hacia las sustancias identificadas en esta tesis como *no-carcinógenos de humanos* (identificación independiente de los datos de histopatología en bioensayos preclínicos de toxicidad crónica, incluidos los RCBs) (*continuación*)

#	Carcinógeno de humanos de tipo de no-mutagénico	Incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el	
		RCB-rata	RCB-ratón
<i>RCBs conducidos empleando la ruta inhalatoria de suministro de las sustancias</i>			
27	<i>Nickel sulfate hexahydrate</i>	Metaplasia escamosa pulmonar	- (sin aumento)
28	<i>Pentachlorophenol</i>	Foco de alteración (eosinofílica y basofílica) hepatocelular	Metaplasia del epitelio olfatorio
29	<i>PCB-118</i>	Metaplasia escamosa pulmonar; Foco de alteración (eosinofílica o mixta) hepatocelular	
30	<i>PCB-126</i>		
31	<i>PCB-153</i>	Foco de alteración (eosinofílica) hepatocelular	
32	<i>Aroclor 1016</i>		
33	<i>Aroclor 1242</i>		
34	<i>Aroclor 1254</i>		
35	<i>Aroclor 1260</i>		
36	<i>Kanechlor 400</i>	Colangiofibrosis (incluye metaplasia de célula caliciforme) en ductos biliares del hígado	
37	<i>Kanechlor 500</i>	Foco de alteración (eosinofílica o basofílica) hepatocelular	
38	<i>Tetrachlorodibenzo-p-dioxin</i>	Metaplasia del epitelio pulmonar; Hiperplasia adenomatosa hepática	- (sin aumento)
39	<i>Trichloroethylene</i>	Metaplasia escamosa uterina	- (sin aumento)
Validación			
Especificidad = Número de <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i> con datos de histopatología pre-neoplásica negativa ÷ Número total de <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i> con datos de histopatología pre-neoplásica disponibles = 35/39 = 0.894 = 89.7%			

Nota #1: Las celdas en blanco correspondieron con una ausencia de datos en la literatura; **Nota #2:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [42,43]; **Número total de carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico con datos de histopatología pre-neoplásica disponibles:** Total de sustancias (1) reconocidas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* y, a su vez, (2) sustancias que fueron ensayadas en RCBs en los que se realizó una exhaustiva examinación histopatológica en busca de lesiones pre-neoplásicas; **Número de carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico con datos de histopatología pre-neoplásica negativa:** Número de sustancias (1) identificadas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* y, a su vez, (2) sustancias cuyo ensayo en el RCB concurrió con una ausencia de incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de alguna de las lesiones pre-neoplásicas especificadas en esta tabla. **§ Adenosis cervical:** metaplasia del epitelio del cuello uterino (lesión pre-neoplásica).

~ Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB ~ es razonablemente eficaz como método para identificar las sustancias pertenecientes a la misma categoría toxicológica que aquellas en las que esta tesis basó la SPEC del RCB (Tabla A7). Así, para cumplir con el **objetivo específico #4**, esta tesis seleccionó sustancias que cumplieren con las siguientes características: **(1)** ausencia de carcinogénesis química en el RCB; **(2)** evidencia de carencia de mutagenicidad y genotoxicidad, específicamente, basado en sus resultados en pruebas validadas

de toxicología genética; **(3)** ausencia de incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el RCB, y **(4)** relevancia para la sociedad (p. ej., por estar autorizadas en diversos países como colorantes para uso en medicamentos de la medicina humana). Para las sustancias (del **objetivo específico #4**) cuya probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* fue objeto de estudio en esta tesis, la **Tabla A10** muestra **(1)** sus resultados en las pruebas de genotoxicidad; **(2)** sus resultados en el RCB, en relación con posibles cambios en la incidencia de tumores; **(3)** sus resultados en el RCB, con respecto de posibles cambios en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas, y **(4)** sus usos en la sociedad. Para conocer los posibles incrementos (estadísticamente significativos) en la *incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el RCB* por cuenta de **(1)** los **no-carcinógenos de humanos** especificados en la **Tabla 13**; **(2)** los **carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico** indicados en la **Tabla 14**, y **(3)** las sustancias del **objetivo específico #4** (**Tabla 18**), esta tesis revisó las publicaciones referenciadas en las distintas fuentes de información de la **Tabla 15**.

Tabla 15. Fuentes de información consultadas en esta tesis para conocer los resultados de genotoxicidad, y en el RCB (respecto de la *carcinogénesis química* y de las *lesiones pre-neoplásicas*), de las sustancias seleccionadas aquí para cumplir con el **objetivo específico #4**

FAO/WHO JECFA Monographs & Evaluations. [61]	FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues. [85,86]
EFSA Scientific Opinions and Re-evaluations on Food Additives. [87]	Toxicology/Carcinogenicity bioassays conducted, sponsored, or contracted by the U.S. NTP. [88]

10.3.3. Computación (de los VPNs y de las PVNs)

Esta tesis se planteó como **objetivo específico #4**: estimar la *probabilidad numérica de carencia carcinogenicidad innata para los humanos* de sustancias específicas que han resultado negativas (o no-carcinogénicas) en el RCB. Para las sustancias blanco del **objetivo específico #4** (**Tabla 18**), en principio, intentamos estimar su probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* mediante dos aproximaciones diferentes: **(1)** el *valor predictivo negativo* (VPN; **sección 10.1**), y **(2)** la *probabilidad de verosimilitud negativa* (PVN, **sección 10.1**). Para calcular el VPN, aplicamos la **Ecuación #8**. Dependiendo de, en cuales configuraciones del RCB (**Fig. 2, 3, y 4**) fueron ensayadas las sustancias del **objetivo específico #4**, determinamos cuales cifras emplear para computar las **Ecuaciones #8** o **#22**. En el caso de las sustancias del **objetivo específico #4** ensayadas sólo en el RCB-rata, notamos que: de 84 *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ensayados en el RCB-rata, 80 concurren con una ausencia de carcinogénesis química en dicha configuración del RCB (**Tabla A7**).

Para efectos de la **Ecuación #8**, lo anterior aportó un total de 80 *verdaderos negativos*. Por otra parte, la **Tabla A5** muestra que 11 *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* resultaron negativos a carcinogénesis química en el RCB-rata. Respecto de la **Ecuación #8**, lo anterior aportó un total de 11 *falsos negativos*. Para las 68 *sustancias blanco del objetivo específico #4* (**Tabla 18**), en la **Ecuación #8**, se aplicaron entonces los siguientes datos: **(a)** 80, como numerador (es decir, los 80 *verdaderos negativos*), y **(b)** 91, como denominador (es decir, los 80 *verdaderos negativos* + los 11 *falsos negativos*). Según lo anterior, vía **Ecuación #8**, el VPN del resultado (negativo) entregado por el RCB-rata para las respectivas sustancias del **objetivo específico #4**, sería igual a 87.9%. Considerando lo siguiente, esta tesis consideró dicho VPN impreciso. De los 11 *falsos-negativos*

mencionados anteriormente, 8 tienen datos disponibles en la literatura acerca de la incidencia de lesiones pre-neoplásicas. De esos 8 *falsos-negativos*, 4 concurren con un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el RCB (Tabla A5; Tabla 14). En cambio, ninguna de las 68 sustancias del **objetivo específico #4** incrementó la incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el RCB (Tabla A10). Por lo tanto, el conjunto químico disponible para **(1)** aplicar el Pronóstico Directo a las sustancias del **objetivo específico #4**, y **(2)** para estimar el desempeño predictivo del RCB concerniente a las sustancias del **objetivo específico #4**, es un conjunto químico que carece de sobresaliente semejanza con dichas *sustancias de prueba*. Por lo anterior, para las sustancias del **objetivo específico #4**, esta tesis consideró la **Ecuación #8** (es decir, el Pronóstico Directo) una vía inadecuada para estimar los VPNs de los resultados entregados por el RCB. Como alternativa al Pronóstico Directo, esta tesis apeló al Pronóstico Bayesiano (explicado en la **sección 10.2.3**).

El Pronóstico Bayesiano propone a la **Ecuación #25** como alternativa matemáticamente válida para estimar el *valor predictivo negativo* (VPN), cuando el conjunto químico disponible: no refleja con exactitud la *prevalencia* del atributo examinado (o de la cualidad atribuida) por el respectivo *estándar de referencia* (simulado por el bioensayo preclínico correspondiente) en la categoría a la que la *sustancia de prueba* pertenece en la naturaleza [55]. En la **Ecuación #26**, la predictividad proporcionada por el *desempeño predictivo* del bioensayo (en este caso, la SEN y SPEC estimadas desde *conjuntos químicos* que carecen de sobresaliente semejanza con la *sustancia de prueba*) es matemáticamente optimizada mediante la predictividad que se halla en el comportamiento previo (es decir, en los resultados previos) en el estándar de referencia, de los análogos de la *sustancia de prueba* [55].

$$\text{VPN Bayesiano} = P(\text{RS} - | \text{BIOASSAY} -) = \frac{\text{ODDS}(\text{RS} - | \text{BIOASSAY} -)}{1 + \text{ODDS}(\text{RS} - | \text{BIOASSAY} -)} \quad (25)$$

Donde,

$$\text{ODDS}(\text{RS} - | \text{BIOASSAY} -) \approx \frac{\text{SPEC}}{1 - \text{SEN}} \times \frac{P(\text{RS} -)}{1 - P(\text{RS} -)} \quad (26)$$

En la **Ecuación #26**, el comportamiento en el *estándar de referencia* de los análogos de la *sustancia de prueba*, son resultados que vienen expresados en el término **P(RS-)**. En la **Ecuación #26**, el término **P(RS-)** expresa la probabilidad de que los agentes químicos que tienen sobresaliente semejanza con la *sustancia de prueba* (es decir, agentes químicos de la misma clase o categoría que la *sustancia de prueba*) sean negativos en el *estándar de referencia* de interés [55]. Según la definición de probabilidad en términos de frecuencia relativa [56], Suarez-Torres y col. [55] plantearon que el término **P(RS-)** puede estimarse como: la *prevalencia* (o proporción) de negatividad al respectivo estándar de referencia, en un conjunto de sustancias francamente similares a la *sustancia de prueba*. Las Tablas 13 y 14 muestran que: « de 67 sustancias positivas al criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB*, 63 son *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ». En consecuencia, para las sustancias positivas al criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB* (incluyendo las 68 sustancias del **objetivo específico #4**), el término **P(RS-)** de la **Ecuación #26** resulta ser equivalente a 94.0% ($63/67 \times 100\%$). Al examinar la **Ecuación #14** (referente al cálculo de la PVN, vía **Ecuación #22**) y la **Ecuación #26** (referente al cálculo del VPN Bayesiano, vía **Ecuación #25**), cabe preguntarse: Para las sustancias del **objetivo específico #4** ¿Cuál sensibilidad (SEN) y especificidad (SPEC) se aplicó en esas ecuaciones? Como la adecuación de las **Ecuaciones #22 y #25** depende parcialmente de la representatividad de los *conjuntos químicos* (desde los cuales se estima el desempeño predictivo del bioensayo preclínico) por las

sustancias de prueba [55], y porque las sustancias del **objetivo específico #4 (1)** están reconocidas como *no-mutagénicas* (Tabla A10), y **(2)** además fueron ensayadas en el RCB por vía oral (Tabla A10), en las Ecuaciones #22 y #25 aplicamos los siguientes parámetros: **(1)** la SEN de la vía oral del RCB-rata hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*, y **(2)** la SPEC de la vía oral del RCB-rata, basada en los *no-carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*. Para las sustancias del **objetivo específico #4** ensayadas en el RCB de 2-especies, o ensayadas sólo en el RCB-rata, en las Ecuaciones #14 y #26 aplicamos las siguientes cifras: **(1)** 65% de SEN (Tabla 16), y **(2)** 95.2% de SPEC (Tabla 16). En el caso de las sustancias (del **objetivo específico #4**) ensayadas en el RCB de 2-especies, esta tesis decidió computar (los VPNs y las PVNs) con las cifras de desempeño predictivo del RCB-rata, porque, según lo discutido en la **sección 13.1.1 (Discusión)**: « en el caso de los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, la evaluación del desempeño predictivo del RCB-ratón (y, por consiguiente, de las dos configuraciones del RCB de 2-especies) realizada por esta tesis se consideró aquí una evaluación fallida, inadecuada para orientar el cálculo de *valores predictivos o probabilidades de verosimilitud* por su alta imprecisión (**sección 13.1.1; Discusión**). No obstante, las Tablas A5 y A6 sugieren que, hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, el *desempeño predictivo* de la vía oral del RCB-ratón sería similar al de la vía oral del RCB-rata. Por consiguiente, para las sustancias del **objetivo específico #4** ensayadas sólo en el RCB-ratón (a saber, *alpha-Cypermethrin* y *Esfenvalerate*; Tabla A10), los VPNs y PVNs se computaron aquí aplicando las cifras de SEN y SPEC de la vía oral del RCB-rata (Tabla 16).

11. Resultados

Los resultados de esta tesis se presentan en la Tabla 16, Tabla 17, y Tabla 18. La Tabla 16 reporta el desempeño predictivo, en términos de *sensibilidad (%)* y *especificidad (%)*, evaluado aquí para el *bioensayo de carcinogénesis en roedores a 2-años* (RCB). En la Tabla 16, la *sensibilidad* del RCB se reportó según **(1)** las posibles configuraciones de este bioensayo, en términos de las especies roedoras participantes (Figuras 2, 3, y 4); **(2)** algunas de las vías de exposición (o tratamiento) empleadas en los RCB, y **(3)** según los dos grandes *marcos de acción carcinogénica* de las sustancias (a saber, mutagénico vs. no-mutagénico). En la Tabla 16, se reportó la *especificidad* de la vía oral del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*. Para el RCB, por ejemplo, un 50% de *sensibilidad* implica que: « de todos los *carcinógenos de humanos* hasta ahora identificados por la epidemiología, el RCB respondió a la mitad de ellos con un resultado (falso) negativo. Asimismo, en el caso del RCB, un 50% de *especificidad* significa que: « de todos los *no-carcinógenos de humanos* hasta ahora identificados, el RCB respondió a la mitad de ellos con un resultado (falso) positivo ».

Para las 52 sustancias del **objetivo específico #3**, la Tabla 17 reporta los *valores predictivos positivos Bayesianos* (VPPs), y las *probabilidades de verosimilitud positiva* (PVPs), estimados aquí para los resultados de carcinogénesis química entregados por el RCB para dichas sustancias. Para las 68 sustancias del **objetivo específico #4**, la Tabla 18 reporta los *valores predictivos negativos Bayesianos* (VPNs), y las *probabilidades de verosimilitud negativa* (PVNs), estimados aquí para los resultados (de ausencia de carcinogénesis química) proporcionados por el RCB para dichas sustancias. Por ejemplo, para un agente químico resultó ser carcinogénico en el RCB por vía oral, un VPP Bayesiano (alternativamente, una PVP) de 80% tendría la siguiente implicación epidemiológica: « para condiciones de exposición (o tratamiento) lo suficientemente riesgosas, hay 80% de probabilidad de que la sustancia en cuestión sea connaturalmente carcinogénica para los humanos por

Ingestión ». Para una sustancia que resulte negativa (es decir, no-carcinogénica) en el RCB por vía oral, un VPN Bayesiano (alternativamente, una PVN) de 40% implica que: « incluso para condiciones de exposición (o tratamiento) demasiado riesgosas, hay 40% de probabilidad de que dicha sustancia carezca de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión ». En adición, la [Tablas 17, 18, 19, y 20](#) reportan algunas informaciones útiles sobre las sustancias cuya ~probabilidad numérica de carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos~ fue objeto de estudio de esta tesis. Esas informaciones incluyen **(1)** el uso de la sustancia en la sociedad (p. ej., colorante de alimentos y medicamentos; principio activo de productos plaguicidas); **(2)** la clase química o farmacológica de la sustancia (p. ej., piretroides; fluoroquinolonas); **(3)** si la droga (t.c.c. principio activo) en cuestión está autorizada como fármaco de la medicina humana, ya sea en los EUA, Canadá, o la Unión Europea; **(4)** la indicación (enfermedad humana, o condición médica) para la cual está autorizada la droga en cuestión, y **(5)** las vías de exposición (o tratamiento) en humanos a las que aplican los *valores predictivos* y *probabilidades de verosimilitud* estimados por esta tesis.

En tal sentido, las [Tablas 19 y 20](#) no contienen resultados de este trabajo académico. Sin embargo, dichas tablas brindan información relevante para discutir los resultados de esta tesis. Acerca de las vías de exposición (o tratamiento) en humanos a las que aplican las *probabilidades de verosimilitud* y *valores predictivos* estimados por esta tesis, las [Tablas 17 y 18](#) clasificaron dichas rutas en *primarias* ("Vía #1") o *secundarias* ("Vía #2"). Como *primarias* ("Vía #1"), las [Tablas 17 y 18](#) reportaron aquellas vías de tratamiento (o exposición) que son directamente extrapolables a los humanos, basado en la carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) de la sustancia en el RCB mediante esa misma vía ([sección 13.4.2: Discusión](#)). Como *secundarias* ("Vía #2"), las [Tablas 17 y 18](#) reportaron aquellas vías de exposición (o tratamiento) que serían extrapolables a los humanos, conforme con lo discutido en la [sección 13.4.2](#). Por *vías de exposición* o *vías de tratamiento*, esta tesis se refirió a las formas generales de exposición a (o tratamiento con) los agentes químicos, incluyendo **(1)** la ingestión; **(2)** la inhalación; **(3)** la inyección o el implante, y **(4)** el contacto dérmico.

12. Datos

12.1. Descripción y referenciación de los datos

Mediante la divulgación de los datos en los que se basó esta tesis, los autores de este trabajo adherimos a la política de mayor transparencia y reproducibilidad en las ciencias farmacéuticas, y ciencias biomédicas en general. La finalidad de esta sección es reportar los datos que, mediante los métodos explicados en las [secciones 10.1, 10.2, y 10.3](#), dieron lugar a los resultados de este trabajo académico ([Tablas 16, 17, y 18](#)). Debido a la cantidad y diversidad de los datos, se consideró aquí que **(1)** para aquellos que quisieren poner a prueba las hipótesis de esta tesis; **(2)** para aquellos que quisieren verificar la veracidad de los resultados y conclusiones de esta tesis doctoral, o **(3)** para quienes formen parte del jurado de esta tesis, sería de utilidad encontrar una sección como la presente, dedicada sólo a la explicación y referenciación de dichos datos. Al respecto, los datos en los que se basó esta investigación se especifican en diez tablas ubicadas en el [Anexo A \(sección 17\)](#). Brevemente, la [Tabla 21](#) explica de qué trata cada una de las tablas de datos ([Tablas A1 a la A10; Anexo A](#)), así la relación de esas tablas con los *objetivos específicos* y *metodología* de esta tesis.

Tabla 16. (Resultados). Evaluación del desempeño predictivo del RCB como método para predecir los peligros químicos de cáncer para los humanos

Parámetro (descriptor del desempeño predictivo del RCB)	Datos que soportan la respectiva estimación	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
		RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
<i>Sensibilidad por los mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión</i>					
Sensibilidad de la vía oral del RCB	Tablas A1 y A4	94.4% (18)	100% (16)	93.7% (16)	100% (18)
<i>Sensibilidad por los mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación</i>					
Sensibilidad de la vía inhalatoria del RCB	Tablas A1 y A4	100% (20)	95.0% (20)	94.7% (19)	100% (21)
<i>Sensibilidad por los mutágenos carcinogénicos en humanos ya sea por ingestión o inhalación</i>					
Sensibilidad compuesta del RCB (incluyendo las vías oral e inhalatoria)	Tablas A1 y A4	97.3% (38)	97.2% (36)	94.2% (35)	100% (39)
<i>Sensibilidad por los no-mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión</i>					
Sensibilidad de la vía oral	Tabla A5	65.0% (20)	Inadecuada ¢	61.1% (18)	Inadecuada ¢
<i>Sensibilidad por los no-mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación</i>					
Sensibilidad de la vía inhalatoria	Tabla A5	88.8% (36)	Inadecuada ¥	Inadecuada ¥	97.1% (35)
<i>Sensibilidad por los no-mutágenos carcinogénicos en humanos ya sea por ingestión o inhalación</i>					
Sensibilidad compuesta del RCB (incluyendo las vías oral e inhalatoria)	Tabla A5	80.3% (56)	Inadecuada ¥	Inadecuada ¥	94.4% (54)
<i>Sensibilidad por los no-mutágenos carcinogénicos en humanos ya sea por ingestión o inhalación (análisis restringido aquellas sustancias que han sido ensayadas tanto en el RCB-rata como en el RCB-ratón)</i>					
Sensibilidad compuesta del RCB	Tabla A6	79.3% (29)	82.7% (29)	72.4% (29)	89.6% (29)
<i>Especificidad, de acuerdo con las sustancias identificadas en esta tesis como no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i>					
Especificidad de la vía oral del RCB	Tabla A7	95.2% (84)	100% (57)	100% (89)	92.4% (53)

Config: Configuración de RCB (Figuras 2, 3, y 4). **Inadecuada ¢:** Inapropiada para ser comparada con la sensibilidad del RCB-rata, debido a cuatro *carcinógenos de humanos de tipo no mutagénico* de baja potencia carcinogénica que fueron ensayados en el RCB-rata pero no en el RCB-ratón (*sodium arsenite, sodium arsenate, lead arsenate, y chrysotile asbestos*; Tabla A5). **Inadecuada ¥:** Inapropiada para ser comparada con la sensibilidad del RCB-rata, ya que el número de *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ensayados en el RCB-ratón representó sólo el 57% del número de *carcinógenos de humanos* ensayados en el RCB-rata (Tabla A5). **Nota #1:** Las Tablas de la A1 a la A10 se ubican en la [sección 17](#): Anexo A.

Tabla 17. (Resultados). Estimación de la probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* de varios fármacos y otras sustancias de interés

#	Sustancia (nombre genérico)	CASRN®	VPP	PVP	Vía No. 1 ¶	Vía No. 2 §	Clase química o farmacológica
Fármacos varios, y otras drogas de uso o interés para la medicina humana o veterinaria							
1	<i>Amsacrine</i>	51264-14-3; 54301-15-4	99.9%	95.3%	inyección Δ	ingestión	Intercaladores del ADN ▲
2	<i>Bendamustine</i>	3543-75-7; 16506-27-7	99.9%	98.9%	ingestión, inyección		Agentes alquilantes
3	<i>Benznidazole</i>	22994-85-0	99.9%	98.9%	inyección	ingestión	Nitroimidazoles
4	<i>Bleomycin</i>	9041-93-4; 11056-06-7	99.9%	95.3%	inyección		Antibióticos glicopéptidos
5	<i>Carbadox</i>	6804-07-5	99.9%	95.3%	ingestión	inyección	Dióxidos de la benzopirazinas
6	<i>Carmustine</i>	154-93-8	99.9%	98.9%	inyección	ingestión	Nitrosoureas
7	<i>Chloral hydrate</i>	302-17-0; 2218-68-0	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Clorhidrina
8	<i>Chlorozotocin</i>	54749-90-5	99.9%	95.3%	inyección		Nitrosoureas
9	<i>Cisplatin</i>	15663-27-1	99.9%	95.3%	inyección	ingestión	Agentes alquilantes
10	<i>Cytembena</i>	21739-91-3	99.9%	95.3%			Citostático, Antineoplásico
11	<i>Dacarbazine</i>	4342-03-4; 17925-90-5	99.9%	98.9%	ingestión, inyección		Agentes alquilantes
12	<i>Dactinomycin</i>	50-76-0	99.9%	98.9%	inyección	inyección	Intercaladores del ADN ▲ (e inhibidores de topoisomerasas)
13	<i>Danthron</i>	117-10-2	99.9%	98.9%	ingestión		
14	<i>Daunorubicin</i>	20830-81-3; 23541-50-6	99.9%	98.9%	inyección		
15	<i>Desoxycarbadox</i>	55456-55-8	99.9%	95.3%	ingestión	inyección	Benzopirazinas
16	<i>Dexrazoxane (ICRF-187)</i>	24584-09-6; 149003-01-0	99.9%	98.9%	inyección		Inhibidor de topoisomerasas
17	<i>Doxorubicin</i>	23214-92-8; 25316-40-9; 111266-55-8	99.9%	95.3%	inyección		Intercaladores del ADN ▲ (e inhibidores de topoisomerasas)
18	<i>Epirubicin</i>	56390-09-1; 56420-45-2	99.9%	95.3%			
19	<i>Furazolidone</i>	67-45-8	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Nitrofuranos
20	<i>Furylfuramide</i>	3688-53-7	99.9%	98.9%			
21	<i>Hydralazine</i>	86-54-4; 304-20-1	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Ftalazinas
22	<i>Hydroxyurea</i>	127-07-1	99.9%	95.3%	inyección	ingestión	Antimetabolito

(continúa)

Tabla 17. (Resultados). Estimación de la probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* de varios fármacos y otras sustancias de interés (*continuación*)

#	Sustancia (nombre genérico)	CASRN®	VPP	PVP	Vía No. 1 ₡	Vía No. 2 §	Clase química o farmacológica
Fármacos varios, y otras drogas de uso o interés para la medicina humana o veterinaria							
23	<i>Ifosfamide</i>	3778-73-2	99.9%	98.9%	inyección	ingestión	Agentes alquilantes
24	<i>Irinotecan</i>	97682-44-5; 100286-90-6; 136572-09-3	99.9%	95.3%	inyección	ingestión	Inhibidor de topoisomerasas
25	<i>Lomustine</i>	13010-47-4	99.9%	98.9%	inyección	ingestión	Nitrosoureas
26	<i>Mechlorethamine</i>	51-75-2; 55-86-7	99.9%	98.9%	inyección		Mostaza nitrogenada
27	<i>Metronidazole</i>	443-48-1; 13182-82-6; 69198-10-3	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Nitroimidazoles
28	<i>Mitomycin C</i>	50-07-7	99.9%	98.9%	inyección		Agentes alquilantes
29	<i>Mitoxantrone</i>	65271-80-9; 70476-82-3	99.9%	98.9%	inyección		Intercaladores del ADN▲
30	<i>Mequindox</i>	13297-17-1	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Dióxidos de la benzopirazinas
31	<i>Nifurtimox</i>	23256-30-6	99.9%	98.9%	ingestión, inyección		Nitrofuranos
32	<i>Nitrofurantoin</i>	54-87-5; 67-20-9; 17140-81-7	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	
33	<i>Olaquindox</i>	23696-28-8	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Dióxidos de la benzopirazinas
34	<i>Oxcarbazepine</i>	28721-07-5	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Dibenzazepinas
35	<i>Phenazopyridine</i>	94-78-0; 136-40-3	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Azo-aromáticos
36	<i>Phenoxybenzamine</i>	59-96-1; 63-92-3	99.9%	98.9%	ingestión, inyección		Bloqueadores alfa-adrenérgicos
37	<i>Procarbazine</i>	366-70-1; 671-16-9	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Agentes alquilantes
38	<i>Razoxane (ICRF-159)</i>	21416-67-1	99.9%	98.9%	inyección		Inhibidor de topoisomerasas
39	<i>Streptozotocin</i>	18883-66-4	99.9%	98.9%	inyección	ingestión	Nitrosoureas
40	<i>Temozolomide</i>	85622-93-1	99.9%	95.3%	ingestión	inyección	Agentes alquilantes
41	<i>Triethylenephosphoramide</i>	545-55-1	99.9%	95.3%			
42	<i>Triethylenemelamine</i>	51-18-3	99.9%	98.9%	inyección		

(continúa)

Tabla 17. (Resultados). Estimación de la probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* de varios fármacos y otras sustancias de interés (*continuación*)

#	Sustancia (nombre genérico)	CASRN®	VPP	PVP	Vía No. 1 ¶	Vía No. 2 §	Clase química o farmacológica
Fármacos varios, y otras drogas de uso o interés para la medicina humana o veterinaria							
43	<i>Triaziuone</i>	68-76-8	99.9%	95.3%	inyección		Agentes alquilantes
44	<i>Trichlormethine</i>	555-77-1; 817-09-4	99.9%	95.3%	inyección		Mostaza nitrogenada
Tri-fenil-metanos con potencial antimicrobiano							
1	<i>para-Magenta (C.I. Basic Red 9)</i>	479-73-2; 569-61-9	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Tri-fenil-metanos
2	<i>Leucomalachite Green</i>	129-73-7	99.9%	98.9%			
Nitro-fenilos (o Nitro-bencenos) de interés toxicológico							
1	<i>1-Chloro-2-nitrobenzene</i>	88-73-3	99.9%	98.9%	ingestión	inyección	Nitrofenilos – Nitrobencenos
2	<i>1-Chloro-4-nitrobenzene</i>	100-00-5	99.9%	98.9%			
3	<i>1-Methoxy-2-nitrobenzene (2-Nitroanisole)</i>	91-23-6	99.9%	98.9%			
4	<i>1-Methyl-2,4-dinitrobenzene</i>	121-14-2	99.9%	98.9%			
5	<i>2-Methyl-1,3-dinitrobenzene</i>	606-20-2	99.9%	95.3%			
6	<i>4-Nitrobenzene</i>	98-95-3	99.9%	98.9%	inhalación	ingestión, inyección	

▲ Acoplado a la inhibición o envenenamiento de topoisomerasas; **CASRN®**: Número de registro de las sustancias químicas en el Servicio de Resúmenes Químicos (*Chemical Abstract Service*) de la Sociedad Química Americana (*American Chemical Society*); **VPP Bayesiano**: Valor predictivo positivo (es decir, la probabilidad numérica de carcinogenicidad para los humanos, de acuerdo a lo argumentado en la [sección 10.1](#)); **PVP**: Probabilidad de verosimilitud positiva derivada del respectivo cociente de verosimilitud (es decir, otra aproximación matemática a la probabilidad de carcinogenicidad para los humanos, de acuerdo a lo argumentado en la [sección 10.1](#)); **Inyección**: Introducción en el cuerpo mediante aguja y jeringa (incluye las rutas subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, intrauretral, entre otras). **¶ Vía No. 1**: Vía de exposición (o tratamiento) a la cual es directamente extrapolable la *probabilidad de carcinogenicidad para los humanos* estimada en esta tesis, ya que, por esa misma vía de tratamiento, se observó en el RCB la carcinogénesis química asociada a la sustancia en cuestión. **§ Vía No. 2**: Vía de exposición a la cual, en adición a la “Vía No. 1”, podría extrapolarse hipotéticamente la probabilidad de carcinogenicidad para los humanos estimada en esta tesis para la sustancia en cuestión, de acuerdo a (1) lo planteado en la [sección 11](#), y (2) discutido en la [sección 13.4.2](#).

Tabla 18. (Resultados). Estimación de la probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de varias sustancias de interés

#	Sustancia (nombre genérico)	CASRN / PubChem CID	VPN	PVN	Vía No. 1 ¶	Vía No. 2 §	Clase ♦
Principios activos de productos pesticidas (no excluye el que algunas de estas drogas hagan parte de medicamentos de la medicina veterinaria)							
1	<i>Bioresmethrin</i>	28434-01-7	96.2%	73.1%	ingestión		Piretroides
2	<i>Bifenthrin</i>	82657-04-3					
3	<i>Cyfluthrin</i>	68359-37-5					
4	<i>beta-Cyfluthrin (trans-Cyfluthrin)</i>	86560-94-3					
5	<i>Cyhalothrin</i>	68085-85-8					
6	<i>lambda-Cyhalothrin</i>	91465-08-6					
7	<i>Cypermethrin</i>	52315-07-8					
8	<i>alpha-Cypermethrin</i>	67375-30-8					
9	<i>zeta-Cypermethrin</i>	ANR					
10	<i>Deltamethrin</i>	52918-63-5					
11	<i>Ethofenprox</i>	80844-07-1			Ídem Δ		Fenoxis; Piretroides
12	<i>Fenvalerate</i>	51630-58-1			Ídem Δ		Piretroides
13	<i>Esfenvalerate</i>	66230-04-4					
14	<i>Flumethrin</i>	69770-45-2					
15	<i>Permethrin</i>	52645-53-1					
16	<i>Milbemectin</i>	ANR			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
17	<i>Milbemycin A3</i>	51596-10-2					
18	<i>Milbemycin A4</i>	51596-11-3					
Fármacos antimicrobianos de uso en medicina humana o veterinaria							
1	<i>Abamectin</i>	71751-41-2	96.2%	73.1%	ingestión		Lactonas macrocíclicas
2	<i>Avermectin B1a</i>	65195-55-3					
3	<i>Avermectin B1b</i>	65195-56-4					
4	<i>Apramycin</i>	37321-09-8; 65710-07-8			Ídem Δ		Aminoglucósidos
5	<i>Avilamycin</i>	71674 Ω			Ídem Δ		Ortosomicinas

(continúa)

Tabla 18. (Resultados). Estimación de la probabilidad de carencia de carcinogenicidad innata para los humanos de varias sustancias de interés (continuación)

#	Sustancia (nombre genérico)	CASRN / PubChem CID	VPN	PVN	Vía No. 1 ¶	Vía No. 2 §	Clase ♦
Fármacos antimicrobianos de uso en medicina humana o veterinaria							
6	<i>Chlortetracycline</i>	57-62-5; 64-72-2	96.2%	73.1%	ingestión		Tetraciclinas
7	<i>Ciprofloxacin</i>	85721-33-1; 86393-32-0			Ídem Δ		Fluoroquinolonas
8	<i>Danofloxacin</i>	112398-08-0			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
9	<i>Doramectin</i>	117704-25-3			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
10	<i>Emamectin</i>	119791-41-2; 155569-91-8			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
11	<i>Emamectin B1a</i>	11549937 Ω			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
12	<i>Emamectin B1b</i>	15279960 Ω			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
13	<i>Enrofloxacin</i>	93106-60-6			Ídem Δ		Fluoroquinolonas
14	<i>Eprinomectin</i>	123997-26-2			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
15	<i>Eprinomectin B1a</i>	133305-88-1			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
16	<i>Eprinomectin B1b</i>	133305-89-2			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
17	<i>Erythromycin</i>	114-07-8; 134-36-1			Ídem Δ		Macrólidos
18	<i>Ivermectin</i>	70288-86-7			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
19	<i>Ivermectin B1a</i>	71827-03-7			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
20	<i>Ivermectin B1b</i>	70209-81-3			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
21	<i>Milbemycin oxime</i>	129496-10-2			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
22	<i>Milbemycin A3 5-oxime</i>	91617476 Ω			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
23	<i>Milbemycin A4 5-oxime</i>	91617829			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
24	<i>Moxidectin</i>	113507-06-5			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
25	<i>Natamycin (Pimaricin)</i>	7681-93-8			Ídem Δ		Macrólidos
26	<i>Nemadectin</i>	6436124 Ω			Ídem Δ		Lactonas macrocíclicas
27	<i>Neomycin</i>	66-86-4; 1405-10-3			Ídem Δ		Aminoglucósido
28	<i>Neomycin B (Framycetin)</i>	119-04-0; 4146-30-9			Ídem Δ		Aminoglucósido
29	<i>Oxytetracycline</i>	79-57-2; 2058-46-0			Ídem Δ		Tetraciclinas

(continúa)

Tabla 18. (Resultados). Estimación de la probabilidad de carencia de carcinogenicidad innata para los humanos de varias sustancias de interés (continuación)

#	Sustancia (nombre genérico)	CASRN / Colour Index	VPN	PVN	Vía No. 1 ¶	Vía No. 2 §	Clase ♦
Fármacos antimicrobianos de uso en medicina humana o veterinaria							
30	<i>Spinosad</i>	168316-95-8	96.2%	73.1%	ingestión		Macrólidos
31	<i>Spinosyn A</i>	131929-60-7			Ídem Δ		Macrólidos
32	<i>Spinosyn D</i>	131929-63-0			Ídem Δ		Macrólidos
33	<i>Spiramycin</i>	8025-81-8; 68880-55-7			Ídem Δ		Tetraciclinas
34	<i>Tetracycline</i>	60-54-8; 64-75-5			Ídem Δ		Anfenicoles
35	<i>Thiamphenicol</i> <i>Thiamphenicol glycinate</i>	15318-45-3 2393-92-2; 2611-61-2					
Colorantes autorizados en diversos países para uso en alimentos, medicamentos, y/o cosméticos							
1	<i>Amaranth</i>	915-67-3	96.2%	73.1%	ingestión		Azo-aromáticos
		<i>Amaranth, Aluminum Lake</i>					
2	<i>Azorubine</i>	3567-69-9			Ídem Δ		Azo-aromáticos
		<i>Azorubine, Aluminum Lake</i>					
3	<i>Brown HT</i>	4553-89-3			Ídem Δ		Azo-aromáticos
4	<i>Carminic acid</i>	1260-17-9			Ídem Δ		Antraquinonas
5	<i>Carmine</i>	1390-65-4			Ídem Δ		Antraquinonas
6	<i>D&C Yellow No. 10</i>	8004-92-0			Ídem Δ		Quinolinas
		<i>D&C Yellow No. 10 Aluminum Lake</i>					
7	<i>FD&C Blue No. 1</i>	3844-45-9			Ídem Δ		Tri-fenil-metanos
		<i>FD&C Blue No. 1 Aluminum Lake</i>	68921-42-6				
8	<i>FD&C Blue No. 2</i>	860-22-0	Ídem Δ		Indigos		
		<i>FD&C Blue No. 2 Aluminum Lake</i>				16521-38-3	
9	<i>FD&C Green No. 3</i>	2353-45-9	Ídem Δ		Tri-fenil-metanos		
		<i>FD&C Green No. 3 Aluminum Lake</i>				C.I. 42053:1 (Colour Index)	
10	<i>FD&C Red No. 40</i>	25956-17-6	Ídem Δ		Azo-aromáticos		

(continúa)

Tabla 18. (Resultados). Estimación de la probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de varias sustancias de interés (*continuación*)

#	Sustancia (nombre genérico)	CASRN®	VPN	PVN	Vía No. 1 ¶	Vía No. 2 §	Clase ♦
Colorantes autorizados en diversos países para uso en alimentos, medicamentos, y/o cosméticos							
10	FD&C Red No. 40 Aluminum Lake	68583-95-9	96.2%	73.1%	ingestión		Azo-aromáticos
11	FD&C Yellow No. 5	1934-21-0			Ídem Δ		Azo-aromáticos
	FD&C Yellow No. 5 Aluminum Lake	12225-21-7					
12	FD&C Yellow No. 6	2783-94-0			Ídem Δ		Tri-fenil-metanos
	FD&C Yellow No. 6 Aluminum Lake	15790-07-5					
13	Patent Blue V, Calcium Salt	3536-49-0			Ídem Δ		Tri-fenil-metanos
	Patent Blue V, Sodium Salt	20262-76-4					
	Patent Blue V, Aluminum Lake	86510-75-0					
14	Patent Blue VF (Blue VRS), Sodium Salt	129-17-9			Ídem Δ		Tri-fenil-metanos
15	Ponceau 4R	2611-82-7			ingestión		Azo-aromáticos
	Ponceau 4R Aluminum Lake	12227-64-4					

♦ Categoría química o farmacológica (p. ej., en términos de: estructura química, mecanismo de acción); Δ **ídem**: igual a lo anterior, es decir, a la celda de encima; **CASRN®**: Número de registro de las sustancias químicas en el Servicio de Resúmenes Químicos (*Chemical Abstract Service*) de la Sociedad Química Americana (*American Chemical Society*); **VPN**: *Valor predictivo negativo* (es decir, la probabilidad de carencia de carcinogenicidad para los humanos, de acuerdo a lo argumentado en la [sección 10.1](#)); **PVN**: *Probabilidad de verosimilitud negativa* derivada del respectivo cociente de verosimilitud (es decir, otra aproximación matemática a la *probabilidad de carencia de carcinogenicidad para los humanos*, de acuerdo a lo argumentado en la [sección 10.1](#)); **Inyección**: Introducción en el cuerpo mediante aguja y jeringa (incluye las rutas subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, entre otras). ¶ **Vía No. 1**: Vía de exposición (o tratamiento) a la cual es directamente extrapolable la *probabilidad de carcinogenicidad para los humanos* estimada en esta tesis, ya que, por esa misma vía de tratamiento, se observó en el RCB la carcinogénesis química asociada a la sustancia en cuestión.

Tabla 19. Fármacos actualmente aprobados en la Unión Europea, los EUA, o Canadá, con limitada o inadecuada evidencia epidemiológica de carcinogenicidad, para los que esta tesis estimó un 98.1% (o más) de probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* (por las vías de exposición especificadas en la [Tabla 17](#))

Fármaco (de uso en humanos)	CASRN®	Evidencia epidemiológica de carcinogenicidad (Institución)	PVP §	Indicaciones ▲
<i>No-antineoplásicos (drogas aprobadas para enfermedades humanas distintas al cáncer)</i>				
<i>Benznidazole</i>	22994-85-0	No evaluada (IARC; NTP)	99.6%	Enfermedad de Chagas pediátrico (de 2 a 12 años de edad)
<i>Danthron</i>	117-10-2	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Estreñimiento en pacientes terminales
<i>Dexrazoxane</i>	24584-09-6	No evaluada (IARC; NTP)	99.6%	Cardiomiopatía asociada a la cardiotoxicidad de la doxorubicina
<i>Hydralazine</i>	86-54-4	evidencia Inadecuada (IARC)	99.6%	Hipertensión severa; Hipertensión esencial
<i>Metronidazole</i>	443-48-1	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Endocarditis bacteriana; Infecciones ginecológicas; Meningitis bacteriana, etc.
<i>Nifurtimox</i>	23256-30-6	No evaluada (IARC; NTP)	99.6%	Enfermedad de Chagas pediátrico (recién nacidos hasta 17 años de edad)
<i>Nitrofurantoin</i>	67-20-9	evidencia Inadecuada (IARC)	99.6%	Infecciones del tracto urinario sin complicaciones
<i>Oxcarbazepine</i>	28721-07-5	No evaluada (IARC; U.S. NTP)	99.6%	Convulsiones de inicio focal
<i>Phenazopyridine</i>	94-78-0	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Irritación de la mucosa del tracto urinario inferior
<i>Phenoxybenzamine</i>	59-96-1	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Hipertensión maligna; Hipertensión asociada a feocromocitomas
<i>Antineoplásicos (drogas aprobadas para el tratamiento del cáncer humano)</i>				
<i>Amsacrine</i>	51264-14-3	evidencia Inadecuada (IARC)	98.1%	Leucemia aguda en adultos
<i>Bendamustine</i>	3543-75-7	No evaluada (IARC; NTP)	99.6%	Leucemia linfocítica crónica; Linfoma no-Hodgkin
<i>Bleomycin</i>	9041-93-4	evidencia Inadecuada (IARC)	98.1%	Tumores malignos varios (p. ej., carcinomas de células escamosas)
<i>Carmustine</i>	154-93-8	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Tumores malignos varios (p. ej., linfoma de Hodgkin; linfoma no-Hodgkin)
<i>Cisplatin</i>	15663-27-1	evidencia Inadecuada (NTP)	98.1%	Cáncer de ovario; Cáncer testicular; Cáncer de vejiga
<i>Dacarbazine</i>	4342-03-4	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Melanoma; Linfoma de Hodgkin
<i>Dactinomycin</i>	50-76-0	evidencia Inadecuada (IARC)	99.6%	Cánceres varios (p. ej., sarcoma de Ewing; tumor de Wilms)
<i>Daunorubicin</i>	20830-81-3	No evaluada (IARC; NTP)	99.6%	Leucemia linfocítica aguda; Leucemia no-linfocítica
<i>Doxorubicin</i>	23214-92-8	evidencia Inadecuada (NTP)	98.1%	Cánceres varios (p. ej., leucemia mieloblástica aguda)
<i>Epirubicin</i>	56390-09-1	No evaluada (IARC; NTP)	98.1%	Cáncer de seno con metástasis al nódulo linfático axilar
<i>Hydroxyurea</i>	127-07-1	evidencia Inadecuada (IARC)	98.1%	Leucemia mieloide crónica; Carcinomas de células escamosas

(continúa)

Tabla 19. Fármacos actualmente aprobados en la Unión Europea, los EUA, y/o Canadá, con limitada o inadecuada evidencia epidemiológica de carcinogenicidad, para los que esta tesis estimó un 98.1% (o más) de probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* (vías de exposición según [Tabla 17](#)) (*continuación*)

Fármaco (de uso en humanos)	CASRN®	Evidencia epidemiológica de carcinogenicidad (Institución)	PVP §	Indicaciones (según DrugBank o la U.S. FDA) ▲
<i>Antineoplásicos (drogas aprobadas para el tratamiento del cáncer humano)</i>				
<i>Ifosfamida</i>	3778-73-2	evidencia Inadecuada (IARC)	99.6%	Variedad de cánceres (p. ej., cáncer testicular; cáncer de cuello uterino)
<i>Irinotecan</i>	97682-44-5	No evaluada (IARC; NTP)	98.1%	Carcinoma de colon o recto metastásico
<i>Lomustine</i>	13010-47-4	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Tumores cerebrales; Linfoma de Hodgkin
<i>Mechlorethamine</i>	51-75-2	evidencia Limitada (NTP)	99.6%	Leucemia linfocítica crónica; Leucemia mielocítica crónica
<i>Mitomycin C</i>	50-07-7	evidencia Inadecuada (IARC)	99.6%	Carcinoma urotelial; Adenocarcinoma pancreático (o gástrico) metastásico
<i>Mitoxantrone</i>	65271-80-9	evidencia Limitada (IARC)	99.6%	Leucemia aguda no-linfocítica en adultos; Cáncer de próstata refractario
<i>Procarbazine</i>	366-70-1	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Linfoma de Hodgkin
<i>Streptozotocin</i>	18883-66-4	evidencia Inadecuada (NTP)	99.6%	Carcinoma neuroendocrino
<i>Temozolomida</i>	85622-93-1	No evaluada (IARC; NTP)	98.1%	Glioblastoma multiforme; Astrocitoma anaplásico refractario

IARC: International Agency for Research on Cancer; § **PVP:** Según los resultados de esta tesis, la *probabilidad de verosimilitud positiva*, es decir, la probabilidad de *carcinogenicidad innata sobre los humanos* por las vías de exposición especificadas en la [Tabla 17 \(sección 10.1\)](#); **U.S. EPA:** United States of America Environmental Protection Agency; **U.S. FDA:** United States of America Food and Drug Administration; **U.S. NTP:** United States of America National Toxicology Program; ▲ Según lo contenido en las informaciones de prescripción de la U.S. FDA, o de acuerdo con los reportado por el portal DrugBank 5.0 [144]. **Nota:** La autorización para uso terapéutico en humanos de la Unión Europea, los EUA, o Canadá, se reportó aquí como una referencia de la significativa presencia de estos fármacos en el mercado mundial, sin desconocer que la presencia en el mercado de cada país del mundo, incluida Colombia, es importante.

Tabla 20. Otras informaciones relevantes acerca de los fármacos actualmente aprobados en la Unión Europea, los EUA, o Canadá, blanco del [objetivo específico #3](#)

Fármaco	CASRN®	Clasificación respecto de carcinogenicidad Ω	Boxed Warning ▲	Warnings or Precautions §	Mensaje más dicente sobre la carcinogenicidad del fármaco, en la información de prescripción autorizada por la U.S. FDA ¥
<i>No-antineoplásicos (drogas aprobadas para enfermedades humanas distintas al cáncer)</i>					
<i>Benznidazole</i>	22994-85-0	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Probable carcinogenicidad	“Se desconoce si el benznidazol está asociado con carcinogénesis en humanos.” (2017)
<i>Danthron</i>	117-10-2	RAHC (NTP); G-2B (IARC)	No aplica	Carcinogénesis en roedores	“El tratamiento oral experimental de ratas y ratones con la dantrona causó tumores intestinales y hepáticos en ambas especies.” (EMC)
<i>Dexrazoxane</i>	24584-09-6	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Ausente	“Dexrazoxano es mutagénico y clastogénico.” (2017)
<i>Hydralazine</i>	86-54-4	G-3 (IARC)	Ausente	Ausente	“El tratamiento oral experimental de ratas y ratones con hidralazina causó tumores pulmonares o hepáticos en ambas especies.” (2015)
<i>Metronidazole</i>	443-48-1	RAHC (NTP); G-2B (IARC)	Presente	Ausente	“Se mostró que el metronidazol es carcinogénico en ratas y ratones. El uso innecesario de esta droga debe ser evitado.” (2020)
<i>Nifurtimox</i>	23256-30-6	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Probable carcinogenicidad	“Se desconoce si el nifurtimox está asociado con carcinogénesis en humanos.” (2020)
<i>Nitrofurantoin</i>	67-20-9	G-3 (IARC)	Ausente	Ausente	“Se desconoce la significación de la carcinogenicidad en roedores, respecto del uso terapéutico de la nitrofurantoina en humanos.”
<i>Oxcarbazepine</i>	28721-07-5	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Ausente	“El tratamiento oral experimental de ratas y ratones con oxcarbazepina causó tumores hepáticos en ambas especies.”
<i>Phenazopyridine</i>	94-78-0	RAHC (NTP); G-2B (IARC)	Ausente	Ausente	“No hay estudios epidemiológicos adecuados sobre la posible asociación entre la fenazopiridina y la neoplasia humana.” (2001)
<i>Phenoxybenzamine</i>	59-96-1	RAHC (NTP); G-2B (IARC)	Ausente	Ausente	“Se conocen reportes de casos de carcinoma en humanos, después del tratamiento a largo-plazo con fenoxibenzamina.” (2008)
<i>Antineoplásicos (drogas aprobadas para el tratamiento del cáncer humano)</i>					
<i>Amsacrine</i>	51264-14-3	G-2B (IARC)	No aplica	Ausente	Ninguno (EMC) (2020)
<i>Bendamustine</i>	3543-75-7	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Probable carcinogenicidad	“Hay reportes de enfermedades malignas (subsecuentes) en pacientes que fueron tratados con bendamustina.” (2018)
<i>Bleomycin</i>	9041-93-4	G-2B (IARC)	Ausente	Ausente	“Se desconoce el potencial carcinogénico de la bleomicina en humanos.” (2010)
<i>Carmustine</i>	154-93-8	RAHC (NTP); G-2A (IARC)	Ausente	Carcinogenicidad	“La terapia con nitrosoureas, tales como la carmustina, tiene potencial carcinogénico en humanos.” (2017)

(continúa)

Tabla 20. Otras informaciones acerca de los fármacos aprobados en la Unión Europea, los EUA, o Canadá, blanco del **objetivo específico #3 (continuación)**

Fármaco	CASRN®	Clasificación respecto de carcinogenicidad Ω	Boxed Warning ▲	Warnings or Precautions §	Mensaje más diciente sobre la carcinogenicidad del fármaco, en la información de prescripción autorizada por U.S. FDA ¥
<i>Antineoplásicos (drogas aprobadas para el tratamiento del cáncer humano)</i>					
<i>Cisplatin</i>	15663-27-1	RAHC (NTP); G-2A (IARC)	Ausente	Probable carcinogenicidad	“Se ha reportado el desarrollo de leucemia aguda como (posible) efecto secundario al uso del cisplatino en humanos.”
<i>Dacarbazine</i>	4342-03-4	RAHC (NTP); G-2B (IARC)	No aplica	Ausente	“Los efectos carcinogénicos de la dacarbazina son detectables en los sistemas experimentales de prueba.”
<i>Dactinomycin</i>	50-76-0	G-3 (IARC)	Ausente	Carcinogénesis	“El tratamiento con dactinomicina incrementa el riesgo de desarrollar cáncer secundario (o colateral).” (2018)
<i>Daunorubicin</i>	20830-81-3	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Ausente	“Se mostró que la daunorubicina tiene propiedades carcinogénicas en modelos experimentales de prueba.” (2008)
<i>Doxorubicin</i>	23214-92-8	RAHC (NTP); G-2A (IARC)	Presente	Carcinogénesis	“El riesgo de leucemia aguda secundaria (o colateral), se incrementa después del tratamiento con doxorubicina.” (2019)
<i>Epirubicin</i>	56390-09-1	No evaluada (IARC; NTP)	Presente	Carcinogénesis	“La leucemia aguda secundaria (o colateral) tiene una incidencia más alta en los pacientes tratados con epirubicina.”
<i>Hydroxyurea</i>	127-07-1	G-3 (IARC)	Presente	Carcinogenicidad	“La hidroxiurea es un carcinógeno de humanos.” (2021)
<i>Irinotecan</i>	97682-44-5	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Ausente	“En ratas, la administración intravenosa de irinotecan resultó en un incremento de la incidencia de tumores uterinos.”
<i>Lomustine</i>	13010-47-4	RAHC (NTP); G-2A (IARC)	Ausente	Carcinogénesis	“Cáncer secundario (o colateral) ocurre por el uso a largo-plazo de la lomustina.” (2016)
<i>Mechlorethamine</i>	51-75-2	RAHC (NTP); G-2A (IARC)	Ausente	Carcinogénesis	“Los riesgos por la exposición colateral (o no terapéutica) a la clormetina incluyen al cáncer.” (2020)
<i>Mitomycin C</i>	50-07-7	G-2B (IARC)	Ausente	Ausente	“Se encontró que la mitomicina es carcinogénica en roedores.”
<i>Mitoxantrone</i>	65271-80-9	G-2B (IARC)	Presente	Carcinogénesis	“La terapia con mitoxantrona incrementa el riesgo de desarrollar leucemia aguda secundaria (o colateral).” (2010)
<i>Procarbazine</i>	366-70-1	RAHC (NTP); G-2A (IARC)	Ausente	Ausente	“Un considerable número de estudios reportaron la carcinogenicidad de la procarbazine en ratas y ratones.”
<i>Streptozotocin</i>	18883-66-4	RAHC (NTP); G-2B (IARC)	Presente	Carcinogenicidad	“Tras ser suministrada parenteralmente, se encontró que la estreptozotocina es carcinogénica en algunos roedores.”

(continúa)

Tabla 20. Otras informaciones acerca de los fármacos aprobados en la Unión Europea, los EUA, o Canadá, blanco del **objetivo específico #3 (continuación)**

Fármaco	CASRN®	Clasificación respecto de carcinogenicidad Ω	Boxed Warning ▲	Warnings or Precautions §	Mensaje más diciente sobre la carcinogenicidad del fármaco, en la información de prescripción autorizada por U.S. FDA ¥
<i>Antineoplásicos (drogas aprobadas para el tratamiento del cáncer humano)</i>					
<i>Temozolomide</i>	85622-93-1	No evaluada (IARC; NTP)	Ausente	Probable carcinogenicidad	“Se han observado casos de cáncer secundario (o colateral) en humanos, después del suministro de la temozolomida.”

Ω Categoría cualitativa en la que la sustancia está clasificada por la IARC o el U.S. NTP, respecto de su *carcinogenicidad innata para los humanos*. Ω **RAHC**: Clasificada por el U.S. NTP como *razonablemente pronosticada de ser un carcinógeno de humanos*. Ω **G-2A**: Clasificada por la IARC como *probablemente carcinogénica para los humanos*. Ω **G-2B**: Clasificada por la IARC como *posiblemente carcinogénica para los humanos*. Ω **G-3**: Clasificada por la IARC como *no clasificable en cuanto a su carcinogenicidad para los humanos*.

§ En la sección de Advertencias y Precauciones de la *información de prescripción*, autorizada por la U.S. FDA para el fármaco en cuestión, la existencia de una advertencia acerca de **(1)** que el fármaco tiene *carcinogenicidad innata sobre los humanos* (referido en esta [Tabla 20](#) como “**Carcinogenicidad**”); **(2)** del conocido incremento en el riesgo de cáncer secundario (o colateral) por el consumo del fármaco en humanos, observado clínicamente, y establecido epidemiológicamente (referido en esta [Tabla 20](#) como “**Carcinogénesis**”), o **(3)** la presunción de *carcinogenicidad innata para los humanos*, basada en que hay cierta (más insuficiente) evidencia epidemiológica en humanos, o, basado en que hay suficiente evidencia de carcinogénesis química en animales de laboratorio (referido en esta [Tabla 20](#) como “**Probable carcinogenicidad**”).

▲ Según lo explicado en el párrafo anterior, advertencia relacionada con **(1)** la carcinogenicidad para los humanos; **(2)** la carcinogénesis en humanos, o **(3)** la probable carcinogenicidad para los humanos del fármaco en cuestión, ubicada en el *cuadro de advertencias (o boxed warnings)* de la *información de prescripción* autorizada por la U.S. FDA para el fármaco (este cuadro aparece al inicio de la 1era. página de la información de prescripción, elevando así el chance de que el facultativo no ignore los efectos perjudiciales del fármaco sobre la salud o vida del paciente). **EMC**: Electronic Medicines Compendium, una fuente de información autorizada por la Agencia Reguladora de las Medicinas y Productos para la Salud del Reino Unido (UK MHRA), que reporta en la internet la información de prescripción aprobada por la UK MHRA para el fármaco en cuestión. De acuerdo con el EMC, las informaciones de prescripción de la UK MHRA no contienen un *cuadro de advertencias (o boxed warnings)*, como es el caso de la U.S. FDA.

Tabla 21. Descripción y referenciación de los datos en los que se basó la presente tesis

Título	Datos	Metodología aplicada sobre los datos	Objetivo específico de la tesis vinculado
Tabla A1	Desenlace binario en el RCB, y mecanismo de acción carcinogénica, de los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico reconocidos en esta tesis. (Incluye las rutas de exposición por las cuales se ensayaron estos <i>carcinógenos de humanos</i> en los RCBs).	Cálculo de la <i>sensibilidad</i> del RCB hacia los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico (sección 9.3).	Objetivo específico #1. (Evaluación la <i>sensibilidad</i> del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico).
Tabla A2	Desenlace binario en diversas pruebas de genotoxicidad para los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico reconocidos en esta tesis.	Identificación de la <i>mutagenicidad</i> de las sustancias (sección 10.2.2)	Objetivo específico #3. (Estimar la probabilidad cuantitativa de <i>carcinogenicidad innata</i> para los humanos de múltiples sustancias específicas).
Tabla A3	En las pruebas de genotoxicidad, los patrones de comportamiento (es decir, de desenlace binario) de los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico . Las características de estos patrones de desenlace se describen en la Tabla 6. §		
Tabla A4	Desenlace binario en el RCB para los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico reconocidos en esta tesis. (Nota: Esta tabla es una versión simplificada de la Tabla A1, a efectos de ilustrar el cálculo de la <i>sensibilidad</i> del RCB hacia los <i>carcinógenos de humanos de tipo mutagénico</i> .)	Cálculo de la <i>sensibilidad</i> del RCB hacia los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico (sección 9.3).	Objetivo específico #1. (Evaluar la <i>sensibilidad</i> del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo mutagénico).
Tabla A5	Desenlace binario en el RCB para los carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico reconocidos en esta tesis. (Nota: Incluye las rutas de exposición por las cuales se ensayaron estos <i>carcinógenos de humanos</i> en los RCBs, así como la computación y visualización de la <i>sensibilidad</i> del RCB resultante).	Cálculo de la <i>sensibilidad</i> del RCB hacia los carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico (sección 9.3).	Objetivo específico #1. (Evaluar la <i>sensibilidad</i> del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico).
Tabla A6	Desenlace binario en el RCB para los carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico reconocidos en esta tesis. (Nota: Esta tabla es una versión acotada a los <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i> que han sido ensayados tanto en el RCB-rata como en el RCB-ratón. También incluye la computación y visualización de la <i>sensibilidad</i> resultante).		

(continúa)

Tabla 21. Descripción y referenciación de los datos en los que se basó la presente tesis (*continuación*)

Título	Datos	Metodología aplicada sobre los datos	Objetivo específico de la tesis vinculado
Tabla A7	(1) Los datos mecanicistas que, según esta tesis, indican la <i>carencia de carcinogenicidad innata para los humanos</i> , y (2) el desenlace binario en el RCB, ambas informaciones para las sustancias reconocidas en esta tesis como no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico . (Incluye la computación y visualización de la <i>especificidad</i> resultante)	Cálculo de la <i>especificidad</i> del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico (sección 9.4).	Objetivo específico #2. (Evaluar la <i>especificidad</i> del RCB hacia los carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico).
Tabla A8	Desenlace binario en el RCB, y mecanismos de acción carcinogénica (p. ej., inhibición de topoisomerasas), de las sustancias blanco del objetivo específico #3 . (Incluye las rutas de exposición por las cuales se ensayaron dichas sustancias en el RCB).	Cálculo de los <i>valores predictivos positivos Bayesianos</i> (VPP), y de las <i>probabilidades de verosimilitud positiva</i> (PVP) (secciones 10.1 y 10.2.3)	Objetivo específico #3. (Estimar la probabilidad cuantitativa de <i>carcinogenicidad innata para los humanos</i> de varias sustancias específicas)
Tabla A9	Desenlace binario en las pruebas de genotoxicidad para las sustancias blanco del objetivo específico #3 . Nota: Se especifica también el patrón de comportamiento genotóxico (es decir, el patrón de desenlace binario en las pruebas de genotoxicidad) de las sustancias del objetivo específico #3 .		
Tabla A10	Para las sustancias blanco del objetivo específico #4 : (1) los datos de histopatología en el RCB (p. ej., datos sobre la incidencia de lesiones pre-neoplásicas); (2) el desenlace binario en las pruebas de genotoxicidad, y (3) el desenlace binario en el RCB (a saber, carcinogénesis química vs. ausencia de carcinogénesis química).	Cálculo de los <i>valores predictivos negativos Bayesianos</i> (VPN), y de las <i>probabilidades de verosimilitud negativa</i> (PVN) (secciones 10.1 y 10.3.3)	Objetivo específico #4. (Estimar la probabilidad numérica de <i>carencia de carcinogenicidad innata para los humanos</i> de varias sustancias específicas)

Nota: Las tablas de la A1 a la A10 se ubican en la **sección 17**: Anexo A.

13. Discusión

13.1. Desempeño predictivo del RCB

13.1.1. Configuración, con foco en la selección de las especies

Para las 4 configuraciones del RCB en lo que a la selección de las especies se refiere (Fig. 2, 3, y 4), esta tesis observó una *sensibilidad* (SEN) significativamente mayor hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, comparado con los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (Tabla 16). Para esas 4 configuraciones del RCB, observamos aquí una enorme SEN por los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, con valores que oscilaron entre el 97% y 100% (dependiendo de la configuración en cuestión) (Tabla 16). Ahora bien, los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* en los que esta tesis basó la SEN del RCB, estarían caracterizados por **(1)** una alta potencia mutagénica, y **(2)** por distintos patrones de inequívoca positividad en las pruebas de genotoxicidad (Tablas 6, A2, y A3). Así, la enorme SEN del RCB hacia esos *carcinógenos de humanos mutagénicos* sugiere que: las pruebas de genotoxicidad tienen el potencial de predecir correctamente la *carcinogenicidad innata para los humanos* de los *mutágenos de alta potencia genotóxica*.

En la literatura, lo anterior ha sido parcialmente confirmado mediante dos aproximaciones distintas, a saber: **(1)** la SEN (%) hacia los *carcinógenos de roedores* (es decir, las sustancias carcinogénicas en el RCB) de ciertas *baterías de pruebas de genotoxicidad* [89], y **(2)** mediante la SEN (%) hacia los *carcinógenos de humanos* ya identificados epidemiológicamente, de algunas *baterías de pruebas de genotoxicidad* [90]. Según ambas aproximaciones, ciertas baterías de genotoxicidad presentaron una enorme SEN por los *carcinógenos (ya sea de humanos o de roedores) de tipo mutagénico*, con valores de SEN entre el 95% y 100% [89,90]. Para los ámbitos en los que el RCB se usa como *método de predicción de los peligros químicos de cáncer humano*, resultaría entonces razonable implementar marcos que exijan lo siguiente: « que las *sustancias de interés* sean ensayadas en la mejor batería de genotoxicidad disponible, antes de acometer su ensayo en el RCB ».

Lo anterior, considerando que las pruebas de genotoxicidad son mucho menos prolongadas, mucho menos costosas, y más éticas que los RCBs. Así, para los ámbitos en los que el RCB aplica como *método de predicción de los peligros químicos de cáncer humano*, la positividad de una determinada sustancia a la mejor batería de genotoxicidad, podría ser evidencia suficiente para **(1)** reconocer la *carcinogenicidad innata para los humanos* de la sustancia, y **(2)** omitir su ensayo en el RCB, si los respectivos valores predictivos (o probabilidades de verosimilitud) así lo justificasen (sección 13.2). Como se mencionó en la Introducción (sección 1), tanto la omisión como el reemplazo del RCB son de interés internacional, porque ello trae consigo **(1)** una reducción de la experimentación en animales; **(2)** alguna posible disminución en los precios de ciertos medicamentos patentados, y **(3)** una posible disponibilidad más oportuna en el mercado de medicamentos innovadores.

De hecho, la rama preclínica de la farmacología reguladora se está moviendo hacia la implementación de marcos que eximan la realización de RCBs para aquellos *fármacos investigativos* que resulten claramente mutagénicos en *baterías de genotoxicidad* adecuadamente validadas [91]. Para varias sustancias de interés toxicológico, por otra parte, el RCB ha cumplido un rol en el *manejo del riesgo de respuestas tóxicas humanas* a esas sustancias [46]; por ejemplo, aportando datos de toxicidad sobre los cuales basar los *niveles límite de exposición permisibles*

(p. ej., ADI, OEL). Ahora bien, hasta donde el presente autor conoce, no se han desarrollado técnicas que permitan establecer PELs desde los resultados de los métodos alternativos al RCB (métodos tales como las baterías de genotoxicidad). Lo anterior resaltaría **(1)** la necesidad de que tales técnicas sean investigadas y desarrolladas, así como **(2)** que sería pronto como para discontinuar completamente al RCB. Para los casos en que se considere estrictamente necesaria la realización de RCBs, por primera vez, la [Tabla 16](#) muestra que el uso de las dos especies (a saber, ratas y ratones; [Fig. 4](#)) no mejoraría la *sensibilidad* (SEN) del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, en comparación con el uso de una sola especie ([Fig. 2](#) o [Fig.3](#)).

Hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, esta tesis tampoco observó diferencias significativas (es decir, $\geq 5\%$): **(1)** entre las 4 configuraciones del RCB en términos de las especies participantes, así como **(2)** entre la vías oral e inhalatoria de esas 4 configuraciones ([Tabla 16](#)). Por ende, si en el plano de la *identificación de peligros* han de conducirse RCBs para aquellas sustancias que resultaron francamente positivas a la mejor *batería de genotoxicidad* disponible, cualquiera de esas dos vías (a saber, la oral o la inhalatoria) en cualquiera de los dos **RCBs de 1-especie** (es decir, el RCB-ratón o el RCB-rata) es suficiente. Por otro lado, la enorme SEN hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* observada aquí para el RCB ([Tabla 16](#)), podría sugerir que los *carcinógenos de tipo mutagénico (1)* tienen una elevada potencia tanto mutagénica como carcinogénica; **(2)** son fácilmente detectables en la mayoría de las pruebas de genotoxicidad, y **(3)** que son francamente positivos (o carcinogénicos) en el RCB. En la opinión del presente autor, lo anterior no necesariamente es el caso.

Mientras realizábamos la investigación, conocimos el concepto de algunos árbitros de revistas de la toxicología internacional, quienes comentaron que los *~carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* hasta ahora conocidos mediante epidemiología~ son todavía muy pocos como para considerarlos representativos del universo de los *~mutágenos que son carcinogénicos para los humanos~*. Otros autores plantearon que el concepto de *potencia carcinogénica* permite hipotetizar la existencia de un amplio espectro en el que **(1)** en uno de los extremos, se ubicarían las sustancias de enorme potencia carcinogénica (p. ej., muchos de los *mutágenos* en los que esta tesis basó su evaluación de la SEN del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*; [Tablas A1](#) y [A2](#)), y **(2)** en el otro extremo, se ubicarían las sustancias de diminuta (o incluso infinitesimal) potencia mutagénica [[15](#)]. De lo anterior, se puede hipotetizar que: debido a las limitaciones de *poder estadístico* del RCB (p. ej., por los pequeños *tamaños de muestra* usados en él), los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico (1)* con *carcinogenicidad innata para los humanos* aún desconocida por la epidemiología, y **(2)** de baja potencia mutagénica, tenderían a resultar en *falsos-negativos* entregados por el RCB.

Por ejemplo, C.I. Basic Green 4 (CASRN® 569-64-2) y C.I. Pigment Red 23 (CASRN® 6471-49-4), son dos colorantes que poseen toxicóforos (o alertas estructurales) que, inequívocamente, ya están asociados en la literatura con la mutagénesis y la carcinogénesis química (a saber, el toxicóforo *aminas aromáticas*). Además, esos dos pigmentos poseen estructuras químicas claramente semejantes a otras sustancias que resultaron ser genotóxicas y carcinogénicas en los respectivos sistemas experimentales. En el caso de C.I. Basic Green 4, este colorante comparte estructura química con otros *amino-fenil-metanos* mutagénicos y carcinogénicos, tales como C.I. Basic Red 9 (CASRN® 479-73-2) ([Tabla A8](#) y [A9](#)). En el caso de C.I. Pigment Red 23, este colorante comparte estructura con otros *azo-aromáticos* mutagénicos y carcinogénicos, tales como C.I. Solvent Orange 2 (CASRN® 2646-17-5) [[84](#)]. Sin embargo, por separado, *C.I. Basic Green 4* y *C.I. Pigment Red 23* resultaron negativos en los RCBs en los que fueron ensayados [[92,93](#)]. Así, la *sensibilidad* del RCB pudo ser insuficiente como para responder con significación estadística a la carcinogenicidad innata de *C.I. Basic Green 4* y *C.I.*

Pigment Red 23. Lo anterior se mencionó con la finalidad de argumentar tres puntos. Primero, que algunos *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* podrían tener una potencia carcinogénica lo suficientemente baja como para pasar inadvertidos en el RCB y, sin embargo, lo suficientemente alta como para incrementar el riesgo de cáncer en las personas expuestas a ellos, en condiciones de exposición lo suficientemente riesgosas. Segundo, que la enorme SEN hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* evaluada aquí para el RCB, no debería interpretarse como evidencia de: **(1)** que todos los *carcinógenos de tipo mutagénico* poseen una elevada potencia mutagénica y carcinogénica, ni **(2)** de que el RCB sería capaz de detectar a casi todos los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* de la época. Y tercero, para sugerir que, si se desea ampliar el conocimiento acerca de la capacidad predictiva del RCB, resultaría útil investigar cuál es la SEN del RCB hacia los *~carcinógenos de humanos de tipo mutagénico con baja potencia genotóxica~*.

A diferencia de la enorme SEN por los *~carcinógenos de humanos de tipo mutagénico con alta potencia genotóxica~* del RCB general (p. ej., 97%; [Tabla 16](#)), esta tesis observó que: « la vía oral del RCB-rata presentó un deficiente 65% de SEN hacia los *~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~* ([Tabla 16](#)). En contraste con el 65% de SEN hacia los *~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~* de la vía oral del RCB-rata, la vía inhalatoria del mismo RCB-rata presentó un 89% de SEN hacia los *~carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico~* ([Tabla 16](#)). El 24% de diferencia de SEN hacia los *~carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~* observado aquí entre **(1)** la vía oral del RCB-rata, y **(2)** la vía inhalatoria del mismo RCB-rata ([Tabla 16](#)), sugiere que: « a la hora de evaluar el *desempeño predictivo* de los bioensayos *in vivo*, la evaluación debería hacerse en función de las vías de exposición de los animales a las *sustancias de referencia* (sustancias de referencia: aquellos agentes químicos con resultados disponibles tanto en el bioensayo preclínico como en el *estándar de referencia* simulado por dicho bioensayo) » [\[43\]](#).

Para la vía oral del RCB-rata, esta tesis observó 29% de diferencia entre **(1)** la SEN hacia los *~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo mutagénico~*, y **(2)** la SEN hacia los *~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~* ([Tabla 16](#)). Por su parte, lo anterior sugiere que: « a la hora de evaluar el *desempeño predictivo* de las pruebas preclínicas *in vivo*, la evaluación debería hacerse en función del *mecanismo de acción* (o del *modo de acción*) de las sustancias ». En otras palabras, los resultados de esta tesis sugieren que: los bioensayos *in vivo* pueden ofrecer un *desempeño predictivo* distinto, dependiendo de **(1)** la vía de tratamiento de los animales con las *sustancias de prueba*, y **(2)** del *modo de acción* (o *mecanismo de acción*) de las *sustancias de prueba*; específicamente, aquellos *mecanismos de acción* (o *modos de acción*) con clara influencia sobre el atributo examinado (o la cualidad atribuida) por el respectivo estándar de referencia. Ahora bien, las diferencias de SEN hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, observadas aquí entre la vía oral y la vía inhalatoria del RCB-rata, ¿*Correspondieron a un fenómeno biológico o a un artefacto?*

En ese sentido, 3 *no-mutágenos* que en humanos son carcinogénicos tanto por ingestión como por inhalación, **(1)** resultaron en *falsos-negativos* por la vía oral del RCB-rata, mas **(2)** resultaron en *verdaderos-positivos* mediante la vía inhalatoria del mismo RCB-rata (incluyendo el *asbesto crisotilo*, y 2 *compuestos inorgánicos del arsénico*; [Tabla A5](#)). También conocimos de otras sustancias que, a pesar de concurrir con una *ausencia de carcinogénesis química* por la vía oral del RCB-rata, sí resultaron en *carcinogénesis química* mediante la vía inhalatoria del mismo RCB-rata (incluyendo al *dióxido de titanio*, el *formaldehído*, el *acrilonitrilo*, y el *asbesto amosita*) [\[94-96\]](#). Cuando el análisis se restringió a los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ensayados en el RCB-rata y en el RCB-ratón (es decir, en ambas especies), tanto para la vía oral como para la

inhalatoria, no observamos diferencias significativas (a saber, $\geq 5\%$) entre la SEN del RCB-rata y la del RCB-ratón (comparación: vía oral del RCB-rata vs. vía oral del RCB-ratón; comparación: vía inhalatoria del RCB-rata vs. vía inhalatoria del RCB-ratón [Tabla A6](#)). Entonces, los resultados de esta tesis sugieren que: « la SEN de la vía oral de los RCBs hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, es significativamente menor que la SEN de la vía inhalatoria de los RCBs hacia dichos *carcinógenos de humanos (no-mutagénicos)* ([Tabla 16](#)) ». En el caso de la vía oral del RCB-rata ([Tabla 16](#)), una *tasa de falsos-negativos* del 35% (es decir, una SEN del 65%) implica que: la *carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión*, de una proporción significativa de los *carcinógenos no-mutagénicos* aún no-identificados por la epidemiología, pasa desapercibida en el RCB.

Lo anterior, considerando que la gran mayoría de los RCBs han empleado la vía oral de suministro de las sustancias, en vez de la vía inhalatoria (p. ej., porque por vía inhalatoria, la exposición de los roedores requiere de instalaciones más sofisticadas y costosas, y de un *saber-hacer* adicional, comparado con el tratamiento de los roedores por vía oral). La mediocre SEN de la vía oral del RCB-rata hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, termina obstruyendo la utilidad predictiva de los resultados negativos (o de *ausencia de carcinogénesis química*) entregados para las sustancias no-genotóxicas por los RCBs conducidos por vía oral ([sección 13.5](#): Discusión). Lo anterior se debe a que, entre menor es la SEN de un bioensayo preclínico **(1)** menor es la probabilidad de que sus resultados negativos concuerden con el verdadero desenlace de esas sustancias en el respectivo estándar de referencia, y **(2)** mayor es la probabilidad de que los resultados negativos entregados por la prueba preclínica sean del tipo falso-negativo [\[55\]](#).

Los resultados de esta tesis indican así, que es necesario contar con métodos que ofrezcan una SEN hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*, mucho mejor de la que ofrece la vía oral de los RCBs. Por otra parte, esta tesis consideró que los datos disponibles son inadecuados para evaluar la SEN del RCB-ratón por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ([Tabla A5](#); [Tabla 16](#)). Esta tesis también consideró que los datos disponibles son inadecuados para comparar la SEN del RCB-ratón con la SEN del RCB-rata, respecto de los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ([Tabla A5](#); [Tabla 16](#)). Lo anterior, considerando que: **(1)** el número de *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ensayados en el RCB-ratón alcanzó sólo el 57% de los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ensayados en el RCB-rata ([Tabla A5](#)), y **(2)** cuatro *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico con baja potencia carcinogénica*, que sí fueron ensayados en el RCB-rata, no fueron ensayados en el RCB-ratón (*sodium arsenite*; *sodium arsenate*; *lead arsenate*; *chrysotile asbestos*). En buena parte, esas 4 sustancias fueron responsables del 65% de SEN hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, de la vía oral del RCB-rata ([Tabla A5](#)).

Al no estar basada en esos 4 *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico con baja potencia carcinogénica*, nuestra evaluación de la SEN del RCB-ratón habría correspondido con una sobre-estimación engañosa, a efectos de **(1)** orientar la configuración de especies del RCB a ser requerida por las agencias reguladoras, y **(2)** para orientar la estimación de los *valores predictivos* o *probabilidades de verosimilitud* ([sección 10.1](#)). Para evaluar si los RCB de 2-especies ofrecerían una mejor SEN hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* que los RCBs de 1-especie, esta tesis elaboró una tabla que permitió estimar la SEN de las distintas configuraciones del RCB, basado en los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* que han sido ensayados tanto en ratas como en ratones ([Tabla A6](#)). Acerca de la SEN de la vía oral de los RCBs, la [Tabla A6](#) muestra que **(1)** con el RCB de 2-especies por vía oral, sólo *etinilestradiol* viró de *falso-negativo* a *verdadero-positivo* (esto, en comparación con el RCB-rata), **(2)** lo que equivale sólo al 7% de los *carcinógenos de humanos*

por ingestión de tipo *no-mutagénico* ensayados en ambas especies. Para la vía oral de los RCBs, la [Tabla A6](#) también muestra las siguientes cifras de SEN hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*: **(1)** 79% (11/14) de SEN, para el RCB-rata; **(2)** 86% (12/14) de SEN, para el RCB-ratón, y **(3)** 86% (12/14) de SEN, para el RCB de 2-especies (config. #2; [Fig. 4](#)). Claramente, el peso de dicha evidencia es insuficiente como para sustentar que: **(1)** por separado, la vía oral del RCB-rata y la vía oral del RCB-ratón tienen una distinta SEN por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, y **(2)** que la incorporación de ambas especies (es decir, que el uso del RCB de 2-especies) incrementa la SEN del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*. Considerando las importantes desventajas del RCB (p. ej., su extensivo uso de roedores de laboratorio; su enorme costo monetario), esta tesis no encontró evidencia que justifique el uso del ~RCB de 2-especies por vía oral~ para pronosticar la posible *carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión* de las sustancias que resulten negativas a las mejores baterías de genotoxicidad disponibles. Para la vía inhalatoria de los RCBs, la [Tabla A6](#) muestra los siguientes valores de SEN hacia los *carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico*: **(1)** 80.0% (12/15) de SEN, para el RCB-rata; **(2)** 80.0% (12/15) de SEN, para el RCB-ratón; y **(3)** 93.3% (14/15) de SEN, para el RCB de 2-especies (config. #2; [Fig. 4](#)).

Comparado ya sea con el RCB-rata o con el RCB-ratón, el RCB de 2-especies (config. #2; [Fig. 4](#)) viró cuatro (es decir, el 26% de esos) ~*carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico*~ de falsos negativos a verdaderos positivos (incluyendo 1 *compuesto inorgánico del arsénico*, *lindano*, *tricoloroetileno*, y 1 *compuesto inorgánico del níquel*; [Tabla A5](#); [Tabla A6](#)). En el RCB, el uso simultáneo de ratas y ratones concurrió así con un preliminar incremento del 13% en la SEN de la vía inhalatoria del RCB, hacia los ~*carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico*~. Consideramos importante reconocer que dicha evidencia no es lo suficientemente pesada como justificar el uso indiscutible, incuestionable, o imperativo del ~RCB de 2-especies por vía inhalatoria (config. 2)~ para las sustancias no-genotóxicas. Por ejemplo, con el RCB de 2-especies, se desconoce si la vía inhalatoria del RCB pierde demasiada SPEC hacia los *carcinógenos de tipo de no-mutagénico*, comparado con los RCBs de 1-especie. Con el RCB de 2-especies, también desconocemos si dicho aparente incremento de SEN, en realidad, se deba a una ganancia en *repetibilidad* y *reproducibilidad* con el uso de esas dos especies roedoras. Ahora bien, aunque no lo ubica en un escenario indiscutible o imperativo, la evidencia de la [Tabla A5](#) sí hace razonable (o prudente) el uso del del ~RCB de 2-especies por vía inhalatoria~ para los no-genotóxicos, si así lo dispone un instituto de investigación, una agencia reguladora, una universidad, o una industria en el ejercicio de su autonomía. Mientras que el RCB esté vigente, la evidencia de la [Tabla A5](#) justificaría que: « a medida que se vayan conociendo nuevos ~*carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico*~ mediante epidemiología, estos sean ensayados por la vía inhalatoria del RCB de 2-especies ».

Lo anterior, con el fin de confirmar (o descartar) si la incorporación de las dos especies (ratas y ratones) incrementa significativamente la SEN de la vía inhalatoria del RCB hacia ese tipo de *carcinógenos de humanos*. En tal sentido, Suarez-Torres y col. [43] revisaron lo siguiente. **(1)** De 195 *drogas plaguicidas* sometidas a evaluación gubernamental en la Unión Europea; **(2)** de 181 fármacos de la medicina humana sometidos a evaluación gubernamental en Alemania y Holanda, y **(3)** de 167 sustancias ensayadas en los RCBs conducidos o contratados por el U.S. NTP (es decir, de 543 sustancias ensayadas tanto en el RCB-rata como en el RCB-ratón; todas las vías de exposición empleadas en los RCB incluidas), el 15% de esas 543 sustancias concurrieron con carcinogénesis química en el RCB-ratón, y concurrieron con una ausencia de carcinogénesis en el RCB-rata [43]. Estos datos también sugieren que: hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, el RCB-rata y el RCB-ratón podrían tener una *sensibilidad* (alternativamente, una *repetibilidad*) distinta y potencialmente aditiva.

13.1.2. Configuración, con foco en la dosificación

Uno de los asuntos que más motivó esta tesis doctoral, fue el marcado contraste entre **(1)** la vigencia del RCB como estándar preclínico de la farmacología y toxicología reguladora, y **(2)** la opinión de algunos autores que señalan al RCB como un método inespecífico (o de baja *especificidad*) [14,15,97]. Con inespecífico, nos referimos aquellos bioensayos preclínicos caracterizados por un alto porcentaje de resultados *falsos-positivos*. En el caso del RCB, dicha inespecificidad se manifestaría como: « un cuantioso porcentaje de *no-carcinógenos de humanos* que, sin relevancia clínica para los humanos, incrementarían la incidencia de tumores en el RCB ». Si el RCB es inespecífico, entonces, sus resultados positivos serían irrelevantes para predecir correctamente la ~carcinogenicidad innata para los humanos~ de las sustancias. Además, si el RCB es inespecífico, su rango reglamentario (o regulador) sería un notable error. En ese sentido, hasta donde sabemos, la *especificidad* (SPEC) del RCB permaneció formalmente desconocida durante sus 40 años de historia, hasta la reciente publicación de esta tesis [42,43]. A nuestro juicio, dicha SPEC permaneció desconocida por dos motivos. Primero, porque la principal finalidad de los RCBs ha sido predecir la ~carcinogenicidad innata para los humanos~ de las sustancias.

Es decir, la principal finalidad del RCB ha sido: « predecir una propiedad (toxicológica) que (dependiendo de la potencia del carcinógeno en cuestión, y dependiendo del poder estadístico de los estudios) **sólo** se evidencia en condiciones de exposición (o tratamiento) lo suficientemente riesgosas ». Por ejemplo, para los carcinógenos de escasa potencia carcinogénica, su carcinogenicidad en humanos sólo se manifestaría en condiciones de exposición **enormemente** riesgosas. Segundo, porque la epidemiología humana se limita aquellas condiciones de exposición (o tratamiento) que son éticamente observables (o experimentables). Además, en función de la limitada cantidad de participantes incluidos en los estudios epidemiológicos, se piensa que las condiciones de exposición que observa la epidemiología, suelen ser condiciones **(1)** concurrentes con un *poder estadístico* insuficiente como para descartar la *carcinogenicidad innata* de las sustancias, y que **(2)** apenas alcanzan para descartar la *carcinogenicidad circunstancial* de la sustancia (es decir, la carcinogenicidad de la sustancia en las condiciones de exposición observadas o dispuestas en dichos estudios epidemiológicos) [42,43].

Considerando lo anterior, esta tesis planteó una metodología alternativa a la epidemiología analítica, para identificar con razonable confianza a las sustancias *carentes de carcinogenicidad innata para los humanos* (es decir, a los *no-carcinógenos de humanos* (sección 9.4.2). Reunimos así 92 sustancias, cada una portando convincente evidencia mecanicista de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* (Tabla A7). Respecto de una *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos*, dichas 92 sustancias (del *objetivo específico #3*) contaron con datos mecanicistas distintos a los datos de esas sustancias en el propio RCB (Tabla A7). Para la vía oral de los RCBs de 1-especie (a saber, el RCB-ratón; el RCB-rata), esta tesis encontró una elevada SPEC (p. ej., $\geq 95\%$) hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico* (Tabla 16). Así, los ~RCBs de 1-especie por vía oral~ respondieron con carcinogénesis química (es decir, con un resultado *falso-positivo*) a menos del 5% de los *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (Tabla 16).

Este es un resultado alentador, considerando que la hipótesis de otros autores acerca de la inespecificidad del RCB, es una hipótesis con ciertos fundamentos [14,15,97]. Dicha hipótesis presenta como uno de sus argumentos que, como el 50% de todas las sustancias (hasta ahora) ensayadas en el RCB ha resultado en carcinogénesis química (p. ej., más de 300 sustancias han resultado carcinogénicas en el RCB) [98], es razonable

asumir que: « las enormes dosis (de las *sustancias de prueba*) empleadas en el RCB, causarían citotoxicidad y una consecuente *mitogénesis regenerativa* (t.c.c. proliferación celular; hiperplasia tisular) en los tejidos de alto recambio celular, promoviendo así una carcinogénesis de carácter artificial o artificiosa (es decir, una carcinogénesis química sin relevancia clínica para los humanos, y correspondiente con resultados del tipo *falso-positivo*) » [14,15,97]. No obstante, considerando la certeza que hay sobre la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias identificadas aquí como *no-carcinógenos de humanos* (p. ej., glicerol, lactosa, sucrosa, vitamina C; [Tabla A7](#)), se puede señalar lo siguiente. La vía oral del RCB, automáticamente, no convierte en *falsos-positivos* a las sustancias que carecen de *carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión* ([Tabla A7](#)). De hecho, por vía oral, los RCBs respondieron con *ausencia carcinogénesis química* a la gran mayoría (> 90%) de las sustancias que, mediante análisis de toxicología mecanicista, son identificables como *carentes de carcinogenicidad innata para los humanos* ([Tabla A7](#); [Tabla 16](#)). Ahora, permítanos revisar algunas consideraciones sobre la alta SPEC evaluada aquí para la vía oral del RCB ([Tabla 16](#); [Tabla A7](#)).

Primero, como consecuencia del método empleado por esta tesis ([sección 9.4.2](#)), lo que aquí se estimó fue: la SPEC de la vía oral de RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ([Tabla 16](#)). Por lo tanto, aún se desconoce cuál es la SPEC del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*. A pesar de lo anterior, se puede razonar lo siguiente. Todos los *mutágenos* con suficiente evidencia epidemiológica como para ser clasificados respecto de su *carcinogenicidad* (o *carencia de carcinogenicidad*) *para los humanos*, en efecto, son *carcinógenos de humanos* (p. ej., según la IARC) ([Tablas A1 y A2](#)). Así, para las sustancias francamente mutagénicas (es decir, aquellas con sobresaliente potencia mutagénica, o con amplios patrones de genotoxicidad experimental), se puede hipotetizar que: la vía oral del RCB entregaría una escasa tasa de *falsos-positivos*, ofreciendo así una enorme SPEC hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*.

Bajo otra argumentación científica ([sección 10.2.3](#)), se propuso aquí que: la SPEC de la vía oral del RCB por los *~carcinógenos de humanos de tipo mutagénico con alta potencia genotóxica~*, sería *mayor o igual* que la SPEC de la vía oral del RCB hacia los *~carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~*. Como ya hay conocimiento sobre la SPEC de la vía oral del RCB hacia los *~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~* ([Tabla 16](#)), esta tesis planteó que: la SPEC de la vía oral del RCB hacia los *~carcinógenos de humanos de tipo mutagénico con alta potencia genotóxica~* sería $\geq 95\%$. Segundo. Debido a las diferencias histológicas, fisiológicas, y patológicas que hay entre los sistemas pulmonar y gastro-intestinal, y, como así lo sugieren los resultados de esta tesis en materia de SEN ([sección 13.1.1](#); [Tabla 16](#)), la SPEC (hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*) evaluada aquí para la vía oral de los RCBs, no es automáticamente extrapolable a la vía inhalatoria de los mismos. Por ejemplo, al ser notablemente más sensible que la vía oral ([Tabla 16](#)), la vía inhalatoria de los RCBs podría ser significativamente más propensa a entregar falsos-positivos.

Tercero. Esta tesis basó su evaluación sobre la SPEC de la vía oral del RCB, en un conjunto de sustancias caracterizadas por tener *~bajo potencial para ser carcinogénicas~*, de acuerdo con su toxicología mecanicista ([Tabla A7](#)) [43]. A su vez, las sustancias con *~bajo potencial de ser carcinogénicas~* tendrían muy bajo chance de concurrir con la carcinogénesis química en el RCB. Entonces, se puede plantear que: « la SPEC de la vía oral del RCB (estimada aquí) por cuenta de los *~no-carcinógenos de humanos no-mutagénicos con escaso potencial para ser carcinogénicos~*, puede estar sobre-estimada comparado con la SPEC de la vía oral del RCB por cuenta de (es decir, basada en) los *~no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico con significativo potencial para ser carcinogénicos~* (sustancias que, aunque carecerían de carcinogenicidad innata para los humanos, sí podrían

incrementar la incidencia de tumores en el RCB; p. ej. por medio de mecanismos irrelevantes para la salud humana, o mediante mecanismos inoperantes en humanos) ». Ahora bien, aunque se desconoce la tasa de *falsos-positivos* entregados por el RCB para los *~no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico con significativo potencial para ser carcinogénicos~*, hay evidencia preliminar sugiriendo que dicha tasa no sería grave. Por ejemplo, 12 *carcinógenos de humanos* (todos con patente potencial de ser carcinogénicos para los roedores), concurren con una ausencia de carcinogénesis en RCBs que fueron conducidos a *dosis máximas toleradas* (MTDs). Entre ellos: **(1)** *formaldehyde* (vía oral del RCB-rata, y vía inhalatoria del RCB-ratón); **(2)** *sodium arsenite* (vía oral del RCB-rata); **(3)** *sodium arsenate* (vía oral del RCB-rata); **(4)** *chrysotile asbestos* (vía oral del RCB-rata); **(5)** *ethinylestradiol plus norgestrel* (vía oral del RCB de 2-especies); **(6)** *mestranol plus lynestrenol* (vía oral del RCB de 2-especies); **(7)** *gallium arsenide* (vía inhalatoria del RCB-ratón); **(8)** *lindane* (vía oral del RCB-rata); **(9)** *nickel subsulfide* (vía inhalatoria del RCB-ratón); **(10)** *nickel sulfate* (vía inhalatoria del RCB de 2-especies); **(11)** PCB-153 (vía oral del RCB-rata), y **(12)** *trichloroethylene* (vía inhalatoria del RCB-rata). Si el RCB fuera inespecífico por cuenta de los *~no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico con significativo potencial para ser carcinogénicos~*, entonces, el RCB habría respondido con carcinogénesis química a la gran mayoría de los *carcinógenos de humanos* ensayados hasta ahora en esta prueba preclínica.

Lo anterior, porque los *carcinógenos de humanos* hasta ahora identificados por la epidemiología: **(1)** operan mediante mecanismos presentes tanto en humanos como en roedores, y **(2)** por lo tanto, tienen robusto potencial para ser carcinogénicos para los roedores. Al contrario. La negatividad en el RCB, de los 12 *carcinógenos de humanos* mencionados previamente (Tablas A1 y A5), sugiere que el RCB ignoraría (mediante la *ausencia de carcinogénesis química*) a la mayoría de los *~no-carcinógenos de humanos con significativo potencial de ser carcinogénicos para los roedores~*. No obstante, es importante advertir lo siguiente. En el caso de las sustancias **(1)** carcinogénicas en el RCB, y **(2)** que carezcan de suficiente evidencia (epidemiológica o mecanicista) sobre su posible *carcinogenicidad* (o *carencia de carcinogenicidad*) innata para los humanos, la SPEC hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* evaluada aquí para la vía oral de los RCBs, es una SPEC que es aplicable (p. ej., para estimar los *valores predictivos*; sección 10.2.3) sólo a las sustancias que, en el RCB, **(a)** operen mediante *modos* (o *mecanismos*) de acción carcinogénica relevantes para la salud humana, o **(b)** mediante *mecanismos* (o *modos*) de acción carcinogénica que son operativos en humanos (p. ej., Tabla 7). Considerando lo anterior, en *toxicología reguladora preclínica*, serán bienvenidas las investigaciones que revelen cuál es la *tasa de falsos-positivos* que entrega el RCB por cuenta de los *~no-carcinógenos de humanos con significativo potencial de ser carcinogénicos para los roedores~* (t.c.c. *carcinógenos específicos de roedores*).

Por otra parte, esta tesis encontró evidencia sugestiva de que: el uso de dosis *desmedidas* en los RCBs (es decir, dosis *francamente exageradas*), sí incrementaría la tasa de *falsos-positivos* entregados por esta prueba preclínica [42,43]. En tal sentido, por estandarización, los RCBs emplean al menos una *dosis máxima tolerada* (MTD) [8,9,13,72]. La MTD ha sido definida como la más alta dosis que, al ser suministrada durante los 24 meses de duración de los RCBs, **(1)** no debe reducir la longevidad natural de los roedores; **(2)** no debe concurrir con evidencia morfológica (p. ej., histopatológica) *extensiva* de toxicidad, la cual pueda interferir con la interpretación acerca de la posible carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) de la *sustancia de prueba* en el RCB, y **(3)** que sí concorra con manifestaciones apreciables (aunque mínimas) de toxicidad (p. ej., manifestaciones clínicas; signos de toxicidad sistémica; signos de toxicidad en órganos blanco). A nuestro juicio, ciertamente, las MTDs pueden calificarse de *enormes*, en términos de la magnitud cuantificable de dichas dosis. Al respecto, algunos detractores del RCB opinaron que las MTDs serían co-responsables de la (presunta) inespecificidad del

RCB [14,15,97]. Sin embargo, los resultados de esta tesis no apoyan la hipótesis de que las MTDs hacen al RCB un método inespecífico (al menos no, según los resultados en el RCB de los *~no-carcinógenos de humanos con escaso potencial de ser carcinogénicos~*, los cuales fueron ensayados en el RCB a MTDs; [Tabla A7](#)). Ahora bien, esta tesis observó que la dosis sí puede influir sobre la SPEC del RCB. Antes de continuar con la discusión, permítanos recordar primero que, en el caso de las sustancias de escasa toxicidad, las pautas del RCB recomiendan las siguientes dosis como *límite superior sustituto* de las MTDs: **(1)** 5%, en *peso de la sustancia de prueba por peso de alimento*, en caso de que la sustancia sea incorporada en (y mezclada con) el alimento; **(2)** 5%, en *peso de la sustancia de prueba por volumen del agua de beber*, en caso que la sustancia sea disuelta (o suspendida) en el agua de beber, o **(3)** 1,000 mg de la sustancia de prueba *por* kg de peso del animal, en caso de que la sustancia sea suministrada mediante sonda orogástrica (t.c.c., alimentación forzada) [8,9,13,72].

Se puede resaltar entonces cómo los siguientes *~no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~*, de acuerdo con la dosificación límite especificada arriba, efectivamente resultaron negativos por la vía oral del RCB-rata. En cambio, a dosis excedentes de los límites mencionados arriba, esos mismos *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* resultaron positivos (a carcinogénesis química) por la vía oral del RCB-rata; a saber: **(1)** Emulsifier YN (dosis: 6%, como peso del alimento); **(2)** Lactitol (dosis: 10%, como peso del alimento); **(3)** Lactosa (dosis: 20%, como peso del alimento), y **(4)** Maltitol (dosis: 9%, como peso del alimento) ([Tabla A7](#)) [42,43]. Si se aumentase el límite superior hasta ahora recomendado para las MTDs (p. ej., a 20% del peso del alimento), como mínimo, la SPEC de la vía oral del RCB-rata hacia los *~carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~* descendería de 95.2% (80/84) a 90.9% (80/88) ([Tabla A7](#)). Adicionalmente, esta tesis observó cómo los siguientes *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, que en el RCB concurren con carcinogénesis química a MTDs, también resultaron negativos en el RCB (virando así de *falsos-positivos a verdaderos-negativos*) a las siguientes dosis: **(1)** Neosugar (dosis: 0.8%, como peso del alimento), y **(2)** *sodium oleate* (dosis: 2.5%, como peso del alimento) ([Tabla A7](#)) [42,43].

En el caso de las sustancias de muy baja toxicidad, si la dosificación se limitase a un máximo de 0.5% como peso del alimento, la SPEC del RCB mejoraría del 90.9% (80/88) (caso: 20%, como peso del alimento) a 97.6% (82/84) (caso: 0.5%, como peso del alimento) ([Tabla A7](#)). Por tanto, esta tesis concluye que: como principio general, la *especificidad* del RCB sí depende de la dosis. Ahora bien, lo discutido anteriormente tiene implicaciones que vale la pena destacar. Primero. La hipótesis de los detractores del RCB, acerca de la (supuesta) inespecificidad del RCB por cuenta de las MTDs, es una hipótesis con cierto fundamento empírico. Ciertamente, la evidencia analizada en los dos párrafos anteriores sugiere que: « a dosis excesivas, exageradas, o brutales (p. ej., dosis > MTD), varios *~no-carcinógenos de humanos con diminuto potencial para ser carcinogénicos para los roedores~*, podrían en efecto causar desbalances fisiopatológicos que **(1)** incrementen la incidencia de tumores en el RCB, pero **(2)** mediante fenómenos artificiales, irrelevantes para la salud humana, o inoperantes en humanos.

Segundo. Los resultados de esta tesis sugieren que, para las sustancias de escasa toxicidad, sería conveniente reducir la dosificación límite de los RCBs de 5% a 2% (ya sea como *peso del alimento*, o *peso a volumen del agua de beber*). Tercero. En el caso de las sustancias con significativa toxicidad, preferiblemente antes de la conducción de un nuevo RCB, se requiere de todos los esfuerzos técnicos por estimar cuál será la dosis más baja (de la *sustancia de prueba*) que cumpla con los criterios de las MTDs. Cuarto. Los resultados de esta tesis también sugieren que: « en el RCB, la incidencia de algunos tumores de roedores (p. ej., los tipos de tumores

infligidos por los *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*) resulta un mal predictor de la *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias ». Según los resultados de esta tesis, en el RCB, los siguientes son algunos *tipos de tumores de roedores* que serían un predictor engañoso (es decir, correspondiente con resultados del tipo falsos-positivo): **(1)** feocromocitomas de la glándula adrenal; **(2)** insulinomas del páncreas, y **(3)** adenomas de la glándula pituitaria (Tabla A7). Si esos tipos de tumores son descontados (o desconsiderados) como una *respuesta carcinogénica predictiva* de los RCBs, nuestras estimaciones nos muestran que se obtendría una mejora adicional en la SPEC del RCB (datos no mostrados). Como esta tesis no se planteó dicho asunto como uno de sus objetivos específicos, resulta de interés investigar: ¿Cuáles *tipos de tumores de roedores*, en adición a los mencionados en el párrafo anterior, tienden a corresponder con un resultado del tipo falso-positivo (asociado con el ensayo a MTDs de *no-carcinógenos de humanos de escaso potencial para ser carcinogénicos para los roedores*) entregado por el RCB?

A medida que se conozcan más tumores de roedores cuyo incremento en el RCB resulta engañoso (para predecir la *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias), la SEN de las distintas configuraciones del RCB (en términos de las especies participantes) tendría que ser re-evaluada acordemente (es decir, descontando todos los *tipos de tumores de roedores engañosos* como una respuesta carcinogénica predictiva del RCB). En otras palabras. Habría que examinar hasta qué punto, el desconsiderar esos *tipos de tumores de roedores* como resultados positivos (o carcinogénicos) en el RCB, reduciría la SEN de este bioensayo respecto de los *carcinógenos de humanos*. Inicialmente, el ensayo de MTDs fue recomendado por expertos mundiales en el RCB (incluyendo el *Centro de Nutrición Aplicada y Seguridad de los Alimentos* de la FDA de los EUA) bajo el argumento de que las MTDs: **(1)** buscarían compensar las inherentes limitaciones de sensibilidad del RCB, especialmente, aquellas derivadas del bajo número de roedores empleados en cada grupo de estudio, y **(2)** aumentarían el chance de que el RCB responda (o detecte) a los *carcinógenos de humanos* débiles (es decir, a los *carcinógenos de humanos con baja potencia carcinogénica*) [8,99].

Tras considerar los argumentos a favor de las MTDs, esta tesis indagó acerca de las limitaciones de SEN a las que estarían sujetos los RCBs, por cuenta del bajo *tamaño de la muestra* empleado en los mismos [43]. Mediante aproximaciones estadísticas, Suarez-Torres y col. [43] mostraron que: « en el mejor de los casos, el RCB es incapaz de responder con significación estadística a los *carcinógenos de humanos* que, según su potencia carcinogénica, causen en los roedores un incremento en la incidencia de tumores *menor* al 78% ». Los autores también mostraron que: « en el peor de los casos, el RCB es incapaz de responder con significación estadística a los *carcinógenos de humanos* que, según su potencia carcinogénica, causen en los roedores un aumento en la incidencia de tumores *menor* al 120% [43]. Ahora bien, una sustancia que aumente la incidencia de cáncer humano en 50%, sería una sustancia **(1)** peligrosa para la salud humana, y **(2)** perjudicial para la salud pública.

Sin embargo, la *carcinogenicidad innata para los humanos* de tal sustancia (una que, en condiciones de exposición lo suficientemente riesgosas, incrementa la incidencia de cáncer humano en 50%), pasaría desapercibida en el RCB. En ese sentido: « el *incremento numeral* en la incidencia de tumores, causado en el RCB por un *carcinógeno de humanos*, es función de lo que se conoce como el *tamaño del efecto* » [43,100]. En el caso del RCB, el *tamaño del efecto* depende de **(1)** la *potencia carcinogénica* de la sustancia en cuestión; **(2)** del *tamaño de muestra* empleado, y **(3)** de la dosis a la que se ensaya la *sustancia de prueba* [43,100]. Asumiendo que, para un determinado *carcinógeno de humanos*, la potencia carcinogénica es fija en las condiciones experimentales ya armonizadas para los RCBs: « en la medida que los *carcinógenos de humanos* (p. ej.,

aquellos *carcinógenos de humanos* aún desconocidos mediante epidemiología) ensayados en el RCB tengan menor potencia carcinogénica, mayor será el *tamaño de la muestra* necesario para que el RCB responda con significación estadística (y detecte así) a dichos *carcinógenos de humanos* ». Sin embargo, como **(1)** no se deben exceder las MTDs (para no llevar la SPEC del RCB a niveles disfuncionales), y **(2)** como el *tamaño de la muestra* de los RCBs está fijado en 50 (p. ej., para cumplir con las exigencias de la bioética moderna), se puede predecir acertadamente que: en los RCBs conducidos a dosis considerablemente por debajo de la MTD, un abanico de *~carcinógenos de humanos de baja potencia carcinogénica~* resultará en *falsos-negativos*.

De hecho, a dosis por debajo de la MTD, los siguientes *carcinógenos de humanos* (identificados mediante epidemiología) no incrementaron con significación estadística la incidencia de tumores en el RCB [101]. En cambio, estos mismos *carcinógenos de humanos* sí incrementaron (con significación estadística) la incidencia de tumores en RCBs conducidos a MTDs: **(1)** *4-aminobiphenyl* (CASRN 92-67-1); **(2)** *sodium dichromate* (CASRN 7789-12-0); **(3)** *1,2-dichloropropane* (CASRN 78-87-5); **(4)** *formaldehyde* (CASRN 50-00-0); **(5)** *ethanol* (CASRN 64-17-5); **(6)** *cyclosporine* (CASRN 59865-13-3); **(7)** TCDD (CASRN 1746-01-6); **(8)** *pentachlorophenol* (CASRN 87-86-5); **(9)** PCB-118 (CASRN 31508-00-6), y **(10)** PCB-126 (CASRN 57465-28-8). Entonces, sí hay evidencia de que las MTDs son necesarias para la sensibilidad del RCB. Dicha conclusión es importante porque, a diferencia de la *toxicología reguladora*, la *farmacología reguladora* acepta el uso de dosis menores a las MTDs en los RCBs destinados a predecir la *carcinogenicidad para los humanos* de los fármacos investigativos [101]. Sugerimos que la farmacología reguladora enfatice a los aplicantes de la industria farmacéutica que, en los RCBs que hacen parte de la toxicología preclínica de ciertos *fármacos investigativos*, es necesario ensayar MTDs.

13.1.3. Discusión de esta tesis con respecto del pasado, presente, y futuro del RCB en la política reguladora

En esta sección, el término *desempeño predictivo* se usará como incluyente de la *sensibilidad* (SEN) y *especificidad* (SPEC) de las pruebas preclínicas. Esta sección discutirá sobre el RCB como método preclínico para identificar los peligros químicos de cáncer humano (es decir, como método para predecir la *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias). Como se mencionó previamente (sección 1; sección 4), hay notable interés internacional por reemplazar al RCB adecuadamente. Lo anterior es comprensible, considerando las importantes desventajas del RCB (sección 1). Por una parte, hay una corriente orientada a la más pronta discontinuación del RCB en la farmacología y toxicología reguladora [14,15,16]. Por otra parte, otros autores ya plantearon un marco de referencia que, en varias situaciones, permitirá omitir al RCB de la toxicología preclínica de los fármacos de la medicina humana [18,103].

Dicho marco de referencia se encuentra actualmente en proceso de implementación por el ICH (Consejo Internacional para la Harmonización de los Requerimientos Técnicos para los Fármacos de Uso en Humanos) [91], lo que impactará sobre las regulaciones de múltiples medicamentos en: Brasil, China, Corea del Sur, Estados Unidos de América, Japón, Singapur, Taiwán, y la Unión Europea (ya que estos países adhieren a las directrices del ICH). Otros estudios, relacionados con el desarrollo de modelos biológicos alternativos al RCB (p. ej., modelos murinos genéticamente modificados), se llevaron a cabo en los últimos años para reemplazar al RCB [17,18,104,105]. Hasta donde este autor conoce, no se ha demostrado que las *alternativas biológicas al RCB* disponibles (p. ej., el ratón **Tg.AC**; el ratón **Tg.rasH2**) tengan un desempeño predictivo *mayor o igual* que

el RCB [104,106]. Adicionalmente, varios de los métodos *in-silico* disponibles como alternativas al RCB, tienen cierta validez por su buena concordancia (o coincidencia) con los resultados del propio RCB [17,18,105]. No obstante, dichos métodos no han sido incorporados en la política reguladora (probablemente, porque hace falta más claridad sobre su utilidad predictiva). Aunque la nueva guía del ICH para la ~evaluación preclínica de la carcinogenicidad para los humanos de los fármacos investigativos~, si promoverá la omisión del RCB en una serie de casos, dicha guía recomienda recurrir al RCB en otros escenarios en los que considera que la información proporcionada por el mismo, sigue siendo necesaria [91]. Así, desde su inceptión, esta tesis reconoció lo siguiente: « tanto para el presente de la predicción preclínica de la *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias, como para facilitar el correcto reemplazo del RCB, es necesario conocer primero cuál es el *desempeño predictivo* del RCB ». A medida que el desempeño predictivo del RCB se siga revelando con la mayor precisión y amplitud posible, se podrán hacer comparaciones *cara a cara* entre **(1)** la capacidad predictiva del RCB, y **(2)** la capacidad predictiva de los métodos alternativos al mismo.

Para los métodos *in-silico* parcialmente validados por la buena concordancia entre sus resultados y los del RCB [17,18,105], conocer el desempeño predictivo del RCB permitirá evaluar si el uso de dichos métodos resulta aceptable, particularmente, tras considerar **(1)** las propias limitaciones predictivas del RCB, y **(2)** las limitaciones de esos métodos *in-silico* para predecir los resultados del RCB [43]. Para los *países* y los *usos de las sustancias* cuya ~evaluación preclínica de la carcinogenicidad para los humanos~ se basa en el RCB (ya sea parcial o totalmente), los resultados de esta tesis justifican el requerimiento gubernamental, tanto histórico como presente-y-provisional, del RCB (Tabla 16). Aparte de su rol como requisito preclínico para la regulación de ciertos tipos de sustancias, discutiremos ahora otra de las ventajas de conocer cuál es el desempeño predictivo del RCB. Cuando el desempeño histórico de una prueba preclínica tiene cualidad predictiva (p. ej., una SEN > 90%, y una SPEC > 90%), para una determinada *sustancia de prueba*, la probabilidad de que los resultados entregados por el bioensayo concuerden con (y acertadamente predigan) los resultados de su estándar de referencia, es una probabilidad que toma cifras predictivas (p. ej., >90%).

Así, con estimación razonable acerca del desempeño predictivo del RCB, esta tesis pudo estimar la probabilidad numérica de *carcinogenicidad innata para los humanos* de 52 sustancias que **(1)** en el RCB, concurrieron con carcinogénesis química en el RCB, y **(2)** que son usadas o de interés para la medicina (Tabla 17; sección 10.2). Así mismo, con una estimación razonable sobre el desempeño predictivo del RCB, esta tesis pudo estimar la probabilidad numérica de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de otras 68 sustancias que **(1)** concurrieron con una ausencia de carcinogénesis química en el RCB, y **(2)** que están autorizadas para uso en la medicina humana o veterinaria (en calidad de principios activos), en la agricultura (en calidad de ingredientes activos de pesticidas), o en la industria de alimentos para humanos (en calidad de colorantes alimentarios) (Tabla 18). Por otro lado, permítanos discutir ahora sobre otras limitaciones del RCB.

El conocimiento muestra que algunos *mecanismos de acción carcinogénica* son propios de (o específicos a) la rata o el ratón [107,108]. Por la fisiología y fisiopatología de nuestra especie, dichos mecanismos han sido propuestos como inoperantes en humanos [107,108]. Así, se les llama *carcinógenos específicos de roedores*, a las sustancias que causan carcinogénesis en roedores mediante *mecanismos de acción* propuestos o considerados como inoperantes en humanos. Si asumimos que existen varios *carcinógenos específicos de roedores* (p. ej., *phenobarbital*; *atrazine*; *d-limonene*; según una parte de la literatura), reconoceríamos en el RCB importantes limitaciones en términos de *especificidad* (SPEC) [107,108]. Sin embargo, hasta donde el presente

autor conoce, no se ha demostrado todavía la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos*, de los *carcinógenos específicos de roedores* propuestos hasta ahora en la literatura. En otras palabras. Incluso si estuviera completamente demostrado que esos “*carcinógenos específicos de roedores*” causan carcinogénesis mediante mecanismos que, a su vez, están totalmente probados de ser inoperantes en humanos, para computar dichos “*carcinógenos específicos de roedores*” como *falsos-positivos* entregados por el RCB, habría que demostrar primero la *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos* de esas sustancias (p. ej., evaluando la inactividad de esas sustancias en los *mecanismos de acción carcinogénica* que sí operan en humanos). Ahora bien, lo anterior no implica que sea correcto lo contrario; es decir, asumir que los *carcinógenos específicos de roedores* son *connaturalmente carcinogénicos para los humanos*.

Si una sustancia causa carcinogénesis en roedores **sólo** mediante *mecanismos de acción* que no operan en humanos, entonces resulta razonable: **(1)** no asumir automáticamente dicha sustancia como *connaturalmente carcinogénica para los humanos*, y **(2)** no asumir automáticamente dicha sustancia como *carente de carcinogenicidad innata para los humanos*. Considerando lo anterior, se necesitan más investigaciones que **(1)** comprueben (o descarten) la existencia de los *carcinógenos específicos de roedores*, sobre la base *sustancia por sustancia*, y **(2)** que examinen hasta qué punto los *carcinógenos específicos de roedores* socavan la SPEC del RCB. En tal sentido, el concepto de los *~carcinógenos específicos de roedores~* llevó al desarrollo de marcos de referencia para una mejor interpretación de los resultados de los RCBs; específicamente, mediante el reconocimiento de los *mecanismos de carcinogénesis específicos de roedores*, como resultados del RCB que son irrelevantes para la salud humana (o del tipo falso-positivo) [26,27,107].

Dichos marcos de referencia se han posicionado como interesantes herramientas para alcanzar una *~evaluación del riesgo de carcinogénesis química en humanos~* más precisa [26,27]. Sin embargo, es importante aclarar que **(1)** en su forma actual, dichos marcos de referencia todavía no han reemplazado ni reducido a los RCBs, y que **(2)** por ahora, esos marcos de referencia vienen recomendado lo siguiente: « que los resultados de los RCBs sean interpretados como relevantes para la salud humana, siempre que la evidencia disponible sea insuficiente como para establecer el mecanismo de acción mediante el que una especie roedora responde (con carcinogénesis química) a la *sustancia de prueba* » [107]. Lo anterior le añade justificación a que esta tesis investigara sobre el desempeño predictivo del RCB (Tabla 16). Por una parte, porque lo anterior prueba la vigencia del RCB. Por otra parte, lo anterior muestra que hay necesidad por conocer cuál es el desempeño predictivo del RCB; por ejemplo, por su aplicabilidad para aquellas sustancias que, en el RCB, causan carcinogénesis química mediante mecanismos de acción **(1)** desconocidos, o **(2)** de los que hay insuficiente evidencia para clasificarlos como *específicos de roedores* (o *inoperantes en humanos*).

El RCB también se ha empleado en la *~caracterización del riesgo y gestión del riesgo* de las respuestas tóxicas humanas-. Por ejemplo, los reguladores han establecido algunos PELs (*niveles máximos permisibles de exposición humana* a sustancias específicas) con base en los resultados cuantitativos entregados por el RCB. Por lo tanto, no es suficiente con investigar el desempeño del RCB como método de predicción de la *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias, como hizo esta tesis. También es necesario investigar el desempeño del RCB como método para *~caracterizar el riesgo de carcinogénesis química en humanos~*. En ese sentido, el buen desempeño evaluado aquí para el RCB como método de *predicción de los peligros químicos de cáncer humano*, permite hipotetizar que: el RCB ofrecería un desempeño funcional en la *caracterización del riesgo de neoplasia química en humanos*. Sin embargo, lo anterior no necesariamente sería

el caso, considerando que los *peligros tóxicos* (es decir, la *toxicidad connatural de las sustancias*) y los *riesgos tóxicos* (es decir, la *probabilidad de respuestas tóxicas*) son fenómenos distintos; fenómenos en los que, las diferencias biomédicas entre los humanos y los roedores, podrían ejercer distinta influencia.

13.2. Aproximaciones probabilísticas para traducir la pertinencia (o irrelevancia) clínica de los resultados de los bioensayos preclínicos

13.2.1. La aproximación probabilística como adyuvante en la traducción clínica de los hallazgos preclínicos

En los últimos 50 años, se ha avanzado mucho en la *-identificación preclínica y pre-comercialización de los peligros químicos de toxicidad para los humanos-*. No obstante, aún persisten brechas y desafíos para la farmacología y toxicología reguladora [74]. Algunas de estas brechas fueron reconocidas por el ICH, quien en 2018 declaró que: «*Se necesita más orientación sobre las mejores prácticas para fortalecer el diseño, la conducción, el análisis, la interpretación, y el reporte de los bioensayos preclínicos, para que estos puedan influir sobre las evaluaciones clínicas*» [109]. Así, aunque ha habido grandes avances en los campos mencionados por el ICH (p. ej., el diseño, el análisis, o la interpretación de los bioensayos preclínicos), las pruebas preclínicas afrontan hoy importantes limitaciones para impactar en **(1)** las regulaciones clínicas; **(2)** las legislaciones, y en **(3)** la práctica médico-farmacéutica [55,109]. La renuencia de la mayoría de los reguladores clínicos, legisladores, y facultativos, de aplicar en su ejercicio profesional los hallazgos de las pruebas preclínicas (p. ej., en ausencia de información epidemiológica sobre el desenlace pronosticado por los bioensayos preclínicos), podría deberse a la dificultad que tiene la *farmacología y toxicología preclínica* para traducir la relevancia clínica de sus hallazgos.

Dicha dificultad encuentra explicación en lo siguiente **(1)** lo disimiles que, para el sentido común, son los animales de laboratorio comparados con el ser humano; **(2)** lo abstracto que, para el sentido común, resultan las extrapolaciones desde los sistemas no-in vivo (p. ej., in vitro, in silico) a las poblaciones humanas, y **(3)** en lo increíble que resulta hoy día que los sistemas no-in vivo incluyan (con elevada precisión) todas las variables del humano vivo. Sin pretender el reemplazo de los ensayos clínicos (ni de los otros tipos de estudios epidemiológicos) por bioensayos predictivos, sí sería beneficioso que las pruebas preclínicas contribuyeran mucho más a la práctica médico-farmacéutica, las regulaciones clínicas, y a las legislaciones relacionadas con el binomio *sustancias químicas y salud humana* (t.c.c. salud ambiental). En tal sentido, durante la investigación sobre el desempeño predictivo del RCB, nuestro grupo conoció acerca del concepto de los *valores predictivos*, que son inherentes a la matemática de la *sensibilidad y especificidad* de los bioensayos preclínicos [55].

Nos llamó la atención que, antes de la publicación científica de los resultados de esta tesis [41-43,74,75,84], el concepto de los *valores predictivos* no había sido aplicado en **(1)** farmacología y toxicología preclínica; **(2)** farmacología y toxicología traslacional, ni **(3)** en farmacología y toxicología reguladora. Por lo discutido en el párrafo anterior, nuestro grupo hipotetizó que los *valores predictivos* traerían un avance significativo, en términos de la traducción clínica de la relevancia (o insignificancia) de ciertos hallazgos preclínicos. Al respecto, permítanos recordar el sentido conceptual de los *valores predictivos*, ya que estos expresan: « la probabilidad

numérica de veracidad (es decir, la probabilidad cuantitativa de concordancia con el respectivo estándar de referencia) en los resultados entregados para una determinada sustancia por el bioensayo correspondiente » [44,55]. Si el *estándar de referencia* simulado por el bioensayo es la epidemiología analítica (como término inclusivo de los ensayos clínicos, la farmacoepidemiología, la toxicoepidemiología, o la farmacovigilancia), entonces los *valores predictivos* expresarán: la probabilidad numérica de que los resultados entregados por ese bioensayo para una determinada sustancia, coincidan con los resultados de esa sustancia según la epidemiología. La epidemiología es generalmente reconocida como el mejor método para determinar si la exposición a (o el tratamiento con) una sustancia influye sobre la salud humana. Por ende, los *valores predictivos* de una prueba preclínica que tiene por *estándar de referencia* a la epidemiología (en adelante, casos mencionados como *bioensayos orientados a la salud humana*), expresarán:

«La probabilidad numérica de que los resultados entregados por el bioensayo para una determinada sustancia, sean clínicamente relevantes». Considerando su significado, los *valores predictivos* están llamados a facilitar la traducción clínica de los hallazgos preclínicos de la farmacología o toxicología. Para una *sustancia de prueba*, si el *valor predictivo* del resultado entregado por el bioensayo (orientado a la salud humana) tiene suficiente magnitud numérica (p. ej., un VPP > 95%), dicho *valor predictivo* podría promover el impacto del respectivo hallazgo preclínico sobre (1) regulaciones de índole clínico; (2) parte de la práctica médico-farmacéutica, o (3) sobre legislaciones relacionadas con la *salud ambiental*. Con el objetivo de analizar, cuestionar, y difundir un *marco conceptual* que permita discernir la relevancia (o insignificancia) clínica de ciertos hallazgos preclínicos, esta tesis produjo una serie de artículos académicos dedicados a los *valores predictivos* y *probabilidades de verosimilitud*, de los resultados entregados por los bioensayos preclínicos (sección 10.1) [44,55,110]. En la literatura, denominamos dichas aproximaciones probabilísticas con dos nombres alternativos (1) la *probabilidad de veracidad preclínica*, y (2) la *probabilidad de relevancia clínica* [55].

Esperamos que esta tesis abra una puerta a la discusión entre grupos de investigación, agencias reguladoras, y la industria químico-farmacéutica, acerca de la posible armonización de la *probabilidad de veracidad preclínica* en aquellas ramas de las ciencias farmacéuticas en las que sea aplicable. En particular, la *probabilidad de veracidad preclínica* va de la mano con la misión fundamental de la *farmacología traslacional* y la *toxicología predictiva*, ya que estas buscan ser el puente que conecte (1) el campo *preclínico* o *de laboratorio* (este último, en el caso de la ecotoxicología y las ciencias para el desarrollo de pesticidas), con (2) el ámbito *clínico* o *de campo* (este último, en el caso de la ecotoxicología y las ciencias para el desarrollo de pesticidas). Apoyadas en la ~probabilidad de veracidad preclínica~, la *farmacología y toxicología traslacional* podría conectar mejor a (1) la farmacología y toxicología preclínica, con (2) la farmacología y toxicología reguladora.

13.2.2. Fortalezas, debilidades, e implicaciones de los *valores predictivos* y *probabilidades de verosimilitud*

Los *valores predictivos* basados en el teorema de Bayes, son una aplicación del paradigma estadístico conocido como *inferencia Bayesiana subjetiva* [111-113]. En adelante, estos valores predictivos serán referidos aquí como los *valores predictivos bayesianos*. El uso de *valores predictivos bayesianos* (como los calculados en esta tesis; secciones 10.2.3 y 10.3.3), y el uso de *probabilidades de verosimilitud* (como las calculadas en esta tesis; sección 10.1), requiere de un conocimiento básico sobre sus fortalezas, debilidades, e implicaciones. Para discutir al

respecto, haremos una breve revisión sobre las bases de dichas aproximaciones probabilísticas. Por su parte, la *inferencia Bayesiana* basa la *previa bayesiana* en datos observados previamente (p. ej., datos históricos) para el fenómeno en pronóstico [111-113]. En estadística Bayesiana, la *previa (bayesiana)* se define como: « la distribución de probabilidades (o función matemática) que, *a priori*, se asume que describe acertadamente la probabilidad de **(1)** que ocurra un determinado desenlace o evento, o **(2)** que resulte un determinado dato » [111-113]. Para poner a la *previa bayesiana* en contexto, nos ubicaremos en el caso de los bioensayos cuyo desempeño predictivo se estima mediante conjuntos químicos que **(1)** no son lo suficientemente representativos de la *sustancia de prueba*, o **(2)** cuya representatividad por la *sustancia de prueba* se desconoce.

Para tales casos, Suarez-Torres y col. [55] plantearon que: « en un conjunto de químicos notablemente similares a la *sustancia de prueba* (específicamente, similitud en aspectos con influencia sobre el *punto final* examinado por el respectivo estándar de referencia), la *previa bayesiana* equivale a la prevalencia (o proporción) de positividad al *estándar de referencia* simulado por el bioensayo, de cuyos resultados queremos conocer el *valor predictivo* ». Volviendo a la generalidad de la *inferencia Bayesiana subjetiva*, esta debe su nombre al tipo de *previas (bayesianas)* que usa, mejor conocidas como *previas informadas (o previas informativas)* [111]. Las *previas informadas* se basan en antecedentes observados (p. ej., los resultados ya observados en el *estándar de referencia* para una serie de análogos de la *sustancia de prueba*), que brindan información adicional sobre la probabilidad de un evento, cuya ocurrencia (o ausencia) se quiere pronosticar mediante un método predictivo (p. ej., con el resultado de una sustancia en un bioensayo preclínico, se quiere pronosticar el desenlace de dicha sustancia en el *estándar de referencia* correspondiente).

Ahora bien, en la *inferencia Bayesiana subjetiva (1)* si hay o no antecedentes relevantes acerca del evento que se pretende predecir, y **(2)** cuáles antecedentes seleccionar para construir la *previa informada*, ambas son decisiones propensas a la subjetividad (es decir, son decisiones que suelen basarse en la *opinión académica* o el *juicio científico*), y poco inclinadas a la objetividad (es decir, a parecer inequívocas ante casi todos los académicos o científicos). Por lo anterior, quienes calculan *valores predictivos bayesianos* deberían basar las *previas informadas* en argumentaciones falsables (es decir, en argumentaciones refutables, ya sea mediante experimentos, pruebas, u otro tipo de evidencia científica) que sean comunicadas mediante documentos auditables. En la *inferencia Bayesiana subjetiva*, para estimar la probabilidad de que ocurra un determinado evento o desenlace, se contrapesa matemáticamente **(1)** la *previa informada* (Ecuaciones #24 y #26), con **(2)** los *cocientes de verosimilitud* (Ecuaciones #9 - #14) [55]. Precisamente, es la multiplicación entre la *previa informada* y el *cociente de verosimilitud*, lo que da lugar al *valor predictivo bayesiano* (es decir, la probabilidad cuantitativa de que ocurra un determinado desenlace) (Ecuaciones #24 y #26).

Tradicionalmente, la *inferencia Bayesiana* ha sido criticada por estadísticos que adhieren a otros paradigmas de inferencia estadística [111,112]. Por ejemplo, la *inferencia Bayesiana* ha sido criticada por **(1)** ser incapaz de manejar casos de alta complejidad; **(2)** por sobre-depender de, y sobre-confiar en *previas bayesianas* que, desde el punto de vista del cálculo, resultan convenientes, y **(3)** por su fragilidad, cuando la información de la *previa bayesiana* entra en franca contradicción con la información de los *cocientes de verosimilitud* [111,112]. En la *inferencia Bayesiana subjetiva*, ciertamente, la *previa informada* tiene sustancial influencia sobre la cifra de los *valores predictivos* resultantes (Ecuaciones #24 y #26) [55]. Por ende, una de las principales debilidades de los *valores predictivos bayesianos* es la distorsión que estos pueden conllevar si hay sesgo, tergiversación, o falsificación por parte del operador bayesiano (es decir, quién calcula *valores predictivos bayesianos*) durante la

construcción de la *previa bayesiana* [55]. Otra debilidad de los *valores predictivos bayesianos* es la siguiente. Si se asume (p. ej., si se reconoce) una *previa informada* igual a cero, entonces, el *valor predictivo bayesiano* resultante también será igual a cero (Ecuaciones #24 y #26). Por consiguiente, una *previa bayesiana* incorrectamente reconocida como *igual a cero* generará valores predictivos engañosos (con probables consecuencias adversas para la salud humana, si se trata de los resultados de bioensayos de la *farmacología secundaria*, *farmacología de seguridad*, o de la *toxicología preclínica*) [55]. No obstante, es importante recordar que hay cuatro *paradigmas fundacionales* distintos, sobre cómo debería realizarse **(1)** la inferencia estadística, incluyendo **(2)** el pronóstico basado en la estadística [114,115]. Después de 200 años de discusión entre los estadísticos expertos, todavía hay desacuerdo sobre cuáles de esos *paradigmas fundacionales* serían válidos y cuáles no [114,115]. Lo anterior sugiere que los cuatro *paradigmas fundacionales* pueden ofrecer soluciones basadas en la ciencia, incluyendo al paradigma Bayesiano.

Ante la ausencia de alternativas en *farmacología y toxicología translacional* por parte de los otros *paradigmas fundacionales*, las soluciones aportadas por el paradigma Bayesiano (p. ej., los *valores predictivos bayesianos*) podrían ser útiles para las ciencias farmacéuticas. Entre las ventajas de la *inferencia Bayesiana subjetiva* se citan las siguientes: **(1)** la consideración de antecedentes pertinentes (p. ej., datos históricos) vía *previa bayesiana*, con el potencial incremento de la precisión sobre la probabilidad de un evento, resultado, o desenlace; **(2)** flexibilidad de cálculo, como se explicó y aplicó en las [secciones 10.2.3 y 10.3.3](#) [55], y **(3)** la habilidad de procesar sistemáticamente grandes cantidades de datos preclínicos [111-113]. En algunos casos de la preclínica **(1)** se sabe que no hay suficiente representatividad hacia la *sustancia de prueba*, por parte del *conjunto químico* en el que se basó la evaluación del desempeño predictivo del bioensayo preclínico, o bien **(2)** se desconoce si dicho *conjunto químico* es representativo de la *sustancia de prueba*, o no.

A medida que dicha representatividad sea más baja (si pensamos en la representatividad como una cualidad gradual), menor será la utilidad de los *valores predictivos convencionales* (t.c.c. Pronóstico Directo), y menor la relevancia clínica del respectivo hallazgo preclínico [55]. Al respecto, una ventaja de las *previas bayesianas*, es que estas permiten optimizar la floja (o laxa) *predictividad* aportada por el desempeño predictivo de un bioensayo preclínico, cuando dicho desempeño se estimó desde un *conjunto químico* de insuficiente (o desconocida) representatividad hacia la *sustancia de prueba* (cuyo desenlace en el *estándar de referencia* queremos predecir) [55]. Estimar *valores predictivos* pertinentes cuando el *conjunto químico* carece de suficiente representatividad por la *sustancia de prueba* (a saber, casos en los que el Pronóstico Directo es inaplicable), es viable porque el Pronóstico Bayesiano nos permite computar *valores predictivos* matemáticamente coherentes, aunque la *previa bayesiana* y el *cociente de verosimilitud* (resultante del desempeño predictivo) hayan sido estimados desde *conjuntos químicos* distintos (es decir, desde conjuntos compuestos por sustancias diferentes) [55].

Por otra parte, las *probabilidades de verosimilitud* son incipientes como herramientas para interpretar la relevancia (o insignificancia) clínica de ciertos hallazgos preclínicos. Por primera vez en la literatura, esta tesis plantea el concepto de las *probabilidades de verosimilitud* ([sección 10.1](#)), con base en el marco matemático contribuido por el Prof. Goodman [81]. Las *probabilidades de verosimilitud* fueron propuestas aquí como alternativa a los *valores predictivos bayesianos* (t.c.c. Pronóstico Bayesiano) ([sección 10.1](#)). A diferencia del Pronóstico Bayesiano, las *probabilidades de verosimilitud* carecen de factores (tales como la *previa bayesiana*) que refinen la laxa (o floja) *predictividad* que se desprende de basar el desempeño predictivo de la prueba preclínica, en *conjuntos químicos* que no son suficientemente representativos de la *sustancia de prueba*.

Lógicamente, dicha desventaja puede ser crítica cuando el *desempeño predictivo* del bioensayo preclínico, se evalúa desde un *conjunto químico* con insignificante representatividad por la *sustancia de prueba*. En tales casos, las *probabilidades de verosimilitud* pueden ser engañosas. Por lo tanto, el uso de las *probabilidades de verosimilitud* es válido si, por lo menos, hay moderada representatividad hacia la *sustancia de prueba*, por parte del conjunto químico en el que se basó el *desempeño predictivo* del bioensayo preclínico [55]. Ahora bien, las *probabilidades de verosimilitud* serían particularmente útiles en los siguientes casos: **(1)** cuando el número de análogos (a saber, agentes químicos notablemente similares a la *sustancia de prueba*) de la *sustancia de prueba*, ya ensayados en el respectivo estándar de referencia, es escaso (p. ej., < 5) como para permitir una estimación razonable de la *previa bayesiana*, o **(2)** cuando estamos ante una audiencia que desapruueba la *inferencia Bayesiana subjetiva* (y, por ende, al Pronóstico Bayesiano), como método de inferencia estadística.

Esta tesis decidió estimar las *probabilidades de verosimilitud* de las sustancias **objetivos específicos #3 y #4**, tras reconocer que los *conjuntos químicos* en los que basamos el desempeño predictivo del RCB, sí tienen significativa (o moderada) representatividad hacia las sustancias de los **objetivos específicos #3 y #4** (secciones 10.2 y 10.3). Adicionalmente, esta tesis decidió estimar las *probabilidades de verosimilitud* de las sustancias de los **objetivos específicos #3 y #4**, tras considerar dichas *probabilidades de verosimilitud* como **(1)** un potencial límite inferior para la probabilidad de *carcinogenicidad* (o de *carencia de carcinogenicidad*) *innata para los humanos* de las sustancias de los **objetivos específicos #3 y #4** [55], y **(2)** como un recurso adicional, de potencial interés para aquellos lectores que desaprueben el Pronóstico Bayesiano. En un comienzo, nuestro grupo ideó el concepto de las *probabilidades de verosimilitud* tras visualizar que: las ecuaciones bayesianas (p. ej., Ecuación #24) pueden basarse sólo en el *coeficiente de verosimilitud* (calculable desde el desempeño predictivo del bioensayo preclínico; p. ej., Ecuación #13), cuando la *previa bayesiana* toma un valor igual a 50%.

Cuando se reconoce una *previa bayesiana* del 50%, el término de la derecha de las Ecuaciones #24 y #26 se hace igual a 1, con la consiguiente reducción (o delimitación) de la ecuación Bayesiana al *cociente de verosimilitud* (p. ej., Ecuación #27) [55]. Si la *previa bayesiana* es arbitrariamente fijada en 50%, entonces, obtenemos una vía matemática para estimar los *valores predictivos* con base en el *cociente de verosimilitud* [55]. En la literatura, hemos llamado la *probabilidad de verosimilitud* a: « el *valor predictivo* que resulta de una ecuación Bayesiana delimitada (o reducida) al cociente de verosimilitud (p. ej., Ecuación #29) » [55]. Como **(1)** el *cociente de verosimilitud* (p. ej., Ecuación #14) está expresado en los términos genéricos representados por la SEN y SPEC del bioensayo preclínico, y porque **(2)** la ecuación Bayesiana resuelve la incongruencia matemática de que el desempeño predictivo del bioensayo haya sido estimado desde un conjunto químico con insuficiente representatividad hacia la *sustancia de prueba* [55], matemáticamente, la *probabilidad de verosimilitud* representa: « una estimación del valor predictivo (del resultado entregado por un bioensayo para una determinada *sustancia de prueba*), desde el desempeño predictivo (de dicho bioensayo) basado en un conjunto químico de insuficiente representatividad hacia la *sustancia de prueba* » [55].

Al principio, consideramos que sería (científica o matemáticamente) incorrecto fijar arbitrariamente la *previa bayesiana* en 50%, sólo con el fin de reducir la ecuación Bayesiana al *cociente de verosimilitud*. Sin embargo, la matemática contribuida por el Prof. Goodman [81], en conjunto con la adaptación de dicha matemática al campo de los bioensayos preclínicos propuesta por nosotros (sección 10.1), mostró lo siguiente: que basar completamente el *valor predictivo* en el *cociente de verosimilitud*, es un procedimiento matemáticamente válido (p. ej., Ecuación #21; Ecuación #29) [55]. Para una misma *sustancia de prueba* (con respecto del resultado

entregado por un mismo bioensayo preclínico), sobre la marcha, observamos una discrepancia (de hasta 15%) entre las cifras de *probabilidad de verosimilitud* entregadas por **(1)** el método propuesto por el Prof. Goodman (p. ej., [Ecuación #21](#)) [81], y **(2)** la delimitación de la ecuación Bayesiana al *cociente de verosimilitud* (p. ej., [Ecuación #27](#)). Provisionalmente, desconocemos la razón de dicha discrepancia. Hasta que la *utilidad predictiva* de ambos procedimientos sea comparada *cara a cara* (p. ej., mediante conjuntos químicos con resultados disponibles tanto en el bioensayo preclínico como en su estándar de referencia), recomendamos estimar las *probabilidades de verosimilitud* mediante la reducción de la ecuación Bayesiana al cociente de verosimilitud ([Ecuaciones #28](#) y [#30](#)). Lo anterior, porque dicho procedimiento (delimitar la ecuación Bayesiana al *cociente de verosimilitud*) permanece dentro del campo matemático de las *probabilidades*. En cambio, la adaptación del método Goodman, implica una traducción de los *cocientes de verosimilitud* en *probabilidades*, mediante el cálculo y re-interpretación del *valor-p* correspondiente (una traducción que podría ampliar el margen de error de la estimación) [55].

$$\text{ODDS (RS + | BIOASSAY +)} \approx \frac{\text{SEN}}{1 - \text{SPEC}} \approx \text{LR}(+) \quad (27)$$

$$\text{PVP} = \frac{\text{ODDS (RS + | BIOASSAY +)}}{1 + \text{ODDS (RS + | BIOASSAY +)}} \approx \frac{\text{LR} +}{1 + (\text{LR} +)} \quad (28)$$

$$\text{ODDS (RS - | BIOASSAY -)} \approx \frac{\text{SPEC}}{1 - \text{SEN}} \approx \text{LR}(-) \quad (29)$$

$$\text{PVN} = \frac{\text{ODDS (RS - | BIOASSAY -)}}{1 + \text{ODDS (RS - | BIOASSAY -)}} \approx \frac{\text{LR} -}{1 + (\text{LR} -)} \quad (30)$$

Por último, es importante reconocer lo siguiente. La estimación de **(1)** *valores predictivos convencionales* (t.c.c. Pronóstico Directo) ([Ecuaciones #6](#) y [#8](#)); **(2)** *valores predictivos bayesianos* (t.c.c. Pronóstico Bayesiano) ([Ecuaciones #23](#) y [#25](#)), o **(3)** de *probabilidades de verosimilitud* ([Ecuaciones #28](#) y [#30](#)), podría ser temporalmente inviable para varios bioensayos preclínicos, y para varias *sustancias de prueba*. Hay al menos dos razones para lo anterior. Primero, por el temporal desconocimiento que podría haber sobre la *sensibilidad* o *especificidad* de un determinado bioensayo preclínico (**Nota:** este escenario impediría la estimación de los *valores predictivos convencionales*, de los *valores predictivos bayesianos*, y de las *probabilidades de verosimilitud*). Segundo, por la temporal imposibilidad que podría haber para estimar la *previa bayesiana*; por ejemplo, porque los agentes químicos ya estudiados en el *estándar de referencia*, no guarden semejanza alguna con la *sustancia de prueba* (**Nota:** este escenario evitaría la estimación de los *valores predictivos bayesianos*).

Por lo anterior, esta tesis no propone a la *probabilidad de veracidad preclínica* ([sección 13.2.1](#)) como un reemplazo automático de los enfoques de la toxicología reguladora que, tradicionalmente, han buscado traducir la potencial relevancia clínica de ciertos hallazgos preclínicos (p. ej., WoE approach; MoA analysis). No obstante, sobre la base *sustancia por sustancia* y *bioensayo por bioensayo*, recomendamos siempre evaluar primero la viabilidad de estimar **(1)** los *valores predictivos convencionales* ([Ecuaciones #6](#)); **(2)** los *valores predictivos bayesianos* ([Ecuaciones #23](#)), o **(3)** las *probabilidades de verosimilitud* ([Ecuaciones #28](#)), antes de concluir acerca de la relevancia (o insignificancia) para la salud humana, de los resultados de un bioensayo preclínico.

13.3. Confiabilidad de las ~probabilidades de carcinogenicidad (o carencia de carcinogenicidad) innata para los humanos~ estimadas por esta tesis

La confiabilidad de cualquier *valor predictivo* (ya sea este convencional o bayesiano), y de toda *probabilidad de verosimilitud*, depende de: **(1)** la calidad de la evaluación disponible sobre el desempeño predictivo del bioensayo en cuestión, y **(2)** de la representatividad del *conjunto químico* (en el que se basó dicha evaluación) hacia la *sustancia de prueba* [44,55]. En el caso de la *sensibilidad* (SEN) del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* evaluada por esta tesis, parámetro esencial para computar el *valor predictivo positivo bayesiano* (VPP Bayesiano) y la *probabilidad de verosimilitud positiva* (PVP) de las sustancias del *objetivo específico #3* (sección 10.2.3), se puede plantear que esta tiene excelente calidad (sección 9.3). Planteamos que dicha evaluación es de excelente calidad, considerando **(1)** la clara carcinogénesis química en humanos (Tabla A1); **(2)** la patente carcinogénesis química en roedores (Tabla A1), y **(3)** el distintivo patrón de genotoxicidad en las respectivas pruebas de toxicología genética (Tablas A2 – A3; Tabla 11), del *conjunto químico* en el que basamos la SEN del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* (Tabla 16). Con base en lo anterior, se puede concluir que: « esta tesis evaluó la SEN del RCB hacia los ~carcinógenos de humanos de tipo mutagénico~ desde un *conjunto químico* homogéneo y consistente, en términos toxicológicos (Tablas A1 – A3; Tabla 11) ».

Las sustancias del *objetivo específico #3* también presentaron **(1)** una patente carcinogénesis química en roedores de laboratorio (Tabla A8), y **(2)** los mismos patrones de genotoxicidad que los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* en los que basamos la SEN del RCB (Tabla A9; Tabla A2). Por consiguiente, el conjunto químico en el que basamos la SEN del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, resultó ser notablemente semejante a (y representativo de) las sustancias del *objetivo específico #3* (Tabla 17). Por la franca consistencia toxicológica de dicho *conjunto químico*, y por la clara representatividad del mismo hacia las *sustancias de prueba* correspondientes, se puede plantear que: « son confiables los VPPs Bayesianos y las PVPs, estimadas aquí para las sustancias del *objetivo específico #3* ». Respecto de la *especificidad* (SPEC) del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, otro parámetro fundamental para computar el VPP y la PVP de las sustancias del *objetivo específico #3*, esta tesis no pudo evaluar dicha SPEC. No obstante, la evidencia y el conocimiento permiten asumir lo siguiente. Primero, que la ~SPEC del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~* evaluada por esta tesis, es un buen sustituto de la ~SPEC del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico con alta potencia genotóxica~* (secciones 10.2.3 y 13.1.2).

Segundo. La patente y amplia genotoxicidad de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* cubiertos por esta tesis (Tabla A2), y la clara causalidad de dicha genotoxicidad sobre la carcinogénesis química en humanos, permite anticipar que: « ha de ser enorme la SPEC del RCB por los *carcinógenos de humanos por de tipo mutagénico con alta potencia genotóxica* » [74,75,84]. Por lo razonable de dichas conjeturas, se puede alegar que: sí son confiables los VPPs Bayesianos y las PVPs, estimadas por esta tesis para las sustancias del *objetivo específico #3*. En adición, la confiabilidad de los *valores predictivos bayesianos*, también depende de que la *previa bayesiana* que sea realmente representativa de la *sustancia de prueba*. Para que una *previa bayesiana* sea lo suficientemente representativa de una *sustancia de prueba*, el conjunto químico en el que se basa dicha *previa bayesiana* **(1)** debe ser homogéneo y consistente; **(2)** debe presentar una sobresaliente semejanza con la *sustancia de prueba*, y **(3)** debe estar constituido por una cantidad suficiente de análogos de la *sustancia de*

prueba (a mayor semejanza entre el conjunto químico y la sustancia de prueba, menor es el número de análogos requeridos para que dicho conjunto sea realmente representativo de la sustancia de prueba) [55]. Acerca de la *previa bayesiana* en la que esta tesis basó los VPPs Bayesianos de las sustancias del **objetivo específico #3** (Tabla 17), se puede discutir lo siguiente. Dicha *previa bayesiana* se basó en más de 31 *carcinógenos de humanos* con un patrón cualitativo de genotoxicidad (en las pruebas de toxicología genética) equivalente al de las sustancias del **objetivo específico #3** (Tabla A2; Tabla A9; Tabla A3; Tabla 11). Así, para las sustancias del **objetivo específico #3**, la *previa bayesiana* se basó en un *conjunto químico* claramente representativo de las *sustancias de prueba*. Considerando **(1)** la consistencia toxicológica del conjunto químico en el que se basó la *previa bayesiana*; **(2)** la patente representatividad de dicho *conjunto químico* hacia las respectivas *sustancias de prueba*, y **(3)** el abundante número de análogos ($n = 31$) en los que se basó la *previa bayesiana*, se puede plantear: que son confiables los VPP Bayesianos estimados aquí para las sustancias del **objetivo específico #3**.

Discutiremos ahora sobre la \sim SEN del RCB hacia los *carcinógenos de humanos tipo no-mutagénico*~, parámetro vital para calcular el VPN Bayesiano y la PVN de las sustancias del **objetivo específico #4** (sección 10.3.3), considerando que las sustancias del **objetivo específico #4** sólo fueron ensayadas en el RCB por vía oral (Tabla A10). Al respecto, la SEN de la vía oral del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, tuvo insuficiente carácter predictivo. Lo anterior, debido a **(1)** lo limitado de su cifra (p. ej., 65% de SEN, en el caso del RCB-rata), y **(2)** la observación de hasta 7 *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, que, mediante la vía oral del RCB-rata, concurren con una ausencia de carcinogénesis química (Tabla 16; Tabla A5). El pronóstico de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos*, hecho por esta tesis para las sustancias del **objetivo específico #4**, levanta así la siguiente pregunta. En vista del 35% de falsos-negativos entregados por la vía oral del RCB-rata para los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*: «¿La ausencia de carcinogénesis química observada en el RCB para las sustancias del **objetivo específico #4**, se trata de resultados del tipo *verdadero-negativo* o *falso-negativo*?».

Entre menor es la SEN de un bioensayo preclínico, mayor es el chance de que sus resultados negativos discrepen de (o discuerden con) los de su estándar de referencia [55]. En consecuencia, apelamos al Pronóstico Bayesiano para potenciar la insuficiente *capacidad predictiva* de la vía oral del RCB, respecto de la *carcinogenicidad* (o *carencia de carcinogenicidad*) *innata para los humanos* de las sustancias no-genotóxicas. Esa insuficiente capacidad predictiva de la vía oral del RCB, por ejemplo, se observó en el 73% de PVN (a saber, una probabilidad de \sim *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos*~ basada sólo en el desempeño predictivo de la vía oral del RCB) estimado aquí para las sustancias del **objetivo específico #4** (Tabla 18). Al respecto, permítanos recordar que la *probabilidad de verosimilitud negativa* (PVN) expresa: la probabilidad numérica de que se trate de un *verdadero-negativo*, el resultado entregado por el bioensayo para una determinada sustancia [55].

Por ende, el término « **[100% – PVN]** » expresa: la probabilidad numérica de que se trate de un *falso-negativo*, el resultado entregado por la prueba preclínica para una determinada sustancia [55]. Así, con 27% de probabilidad de que sean *falsos-negativos* los resultados entregados por el RCB para las sustancias del **objetivo específico #4** (esto, según las respectivas PVNs; Tabla 18), resulta imprudente: « clasificar a las sustancias del **objetivo específico #4** como *carentes de carcinogenicidad innata para los humanos*, con base en las *probabilidades de verosimilitud* de los resultados negativos entregados por el RCB para esas sustancias ». Lo anterior muestra la incapacidad de la vía oral del RCB para predecir la *carcinogenicidad* (o *carencia de carcinogenicidad*) *innata para los humanos* de las sustancias no-genotóxicas. Para aplicar el Pronóstico Bayesiano a las sustancias del **objetivo**

específico #4, basamos la *previa bayesiana* en el criterio *~Ausencia (de Incrementos estadísticamente significativos en la Incidencia) de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB-*. Vía Pronóstico Bayesiano, aumentó de 73% a 96% la probabilidad de que sean *verdaderos-negativos* los resultados entregados por el RCB para las sustancias del **objetivo específico #4** (comparación entre las PVNs y los VPns Bayesianos; [Tabla 18](#)). Con base en el VPN Bayesiano de los resultados entregados por el RCB para las sustancias del **objetivo específico #4**, sí resulta razonable clasificar dichas sustancias como *carentes de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión*. Ahora bien. Aunque todas las sustancias del **objetivo específico #4** concurren con una *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB* ([Tabla A10](#)), resaltamos lo siguiente: « hasta 10% de los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* hasta ahora conocidos (mediante epidemiología analítica), también concurren con una *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB* ([Tabla 14](#)) ».

Lo anterior genera incertidumbre acerca de, si las sustancias **(1)** negativas a carcinogénesis química en el RCB, y **(2)** negativas a las *lesiones pre-neoplásicas en el RCB*, realmente corresponden a *verdaderos-negativos* entregados por el RCB. Dicha incertidumbre se ve reflejada, por ejemplo, en el 3.8% de probabilidad de que sean *falsos-negativos* los resultados entregados por el RCB para las sustancias del **objetivo específico #4** (esto, según los respectivos VPns Bayesianos; [Tabla 18](#)). Por último, discutiremos sobre la *previa bayesiana* en la basamos los VPns, de los resultados negativos entregados por el RCB para las sustancias del **objetivo específico #4**. Primero, dicha *previa bayesiana* está basada en los datos de las [Tablas 13 y 14](#). Al combinar la información de las [Tablas 13 y 14](#), inicialmente reconocimos que: « de 67 sustancias positivas al criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB* **(a)** 63 son *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, y **(b)** 4 son *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ».

Por consiguiente, para las sustancias positivas al criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB* (incluyendo las 68 sustancias del **objeto específico #4**), inicialmente planteamos una *previa bayesiana* del 94% ($63/67 \times 100\%$). Sin embargo, dicha *previa bayesiana* estaría basada en un conjunto químico asimétrico; a saber, en uno compuesto por **(a)** 63 *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, vs. **(b)** 39 *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ([Tablas 13 y 14](#)). Nos preguntamos entonces si, la diferencia de tamaño entre dichos subconjuntos (a saber, 64 vs. 39), podría distorsionar la estimación de la *previa bayesiana*. Primero. Si la proporción de positividad al criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en RCBs*, observada aquí para el grupo de los *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ($63/64 \times 100\% = 98.4\%$; [Tabla 13](#)), se normaliza al número de *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ($n = 39$; [Tabla 14](#)), entonces: de 39 hipotéticos *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (producto de la normalización) con datos de histopatología en el RCB, 38 serían positivos a la *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB*.

Segundo. Si se trabaja con los resultados de dicha normalización, el conjunto de sustancias **(1)** positivas a la *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB*, y **(2)** con resultados disponibles en los estándares de referencia del RCB (a saber: la epidemiología analítica, en el caso de los *carcinógenos de humanos*; y la toxicología mecanicista, en el caso de los *no-carcinógenos de humanos*), resulta ser un conjunto de 42 sustancias (a saber, 38 *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* normalizados + 4 *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*). En consecuencia, aplicamos una *previa bayesiana* del 90.4% ($38/42$) para computar los VPns Bayesianos de los resultados entregados por el RCB para las sustancias del **objetivo específico #4**. Para dichas sustancias, lo anterior resultó en un 96% de probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión*, de acuerdo con el VPN Bayesiano resultante ([Tabla 18](#)).

13.4. Cuestionamiento a los enfoques probabilísticos para inferir la relevancia (o insignificancia) clínica de los hallazgos preclínicos

Para las sustancias del **objetivo específico #4**, la significativa diferencia entre la *probabilidad de verosimilitud negativa* (PVN) y el *valor predictivo negativo bayesiano* (VPN Bayesiano) (a saber, 73% vs. 96%; **Tabla 18**), invita a la siguiente reflexión. A pesar de la corrección matemática, y del fundamento farmacológico (o toxicológico) de los métodos preclínicos en los que se basan, los ~enfoques probabilísticos empleados por esta tesis para inferir la pertinencia (o irrelevancia) clínica de ciertos hallazgos preclínicos~, no son más que: «pronósticos sujetos a distintos márgenes de error». En parte, el margen de error de las predicciones preclínicas proviene de las notables limitaciones de los bioensayos actuales, en materia de *sensibilidad* (SEN) y *especificidad* (SPEC) hacia los *estándares de referencia* simulados por dichos bioensayos predictivos. Lo anterior tiene una implicación fundamental: « como tal, no podemos conocer (ni establecer) la realidad clínica de las sustancias mediante una preclínica basada en bioensayos que, hacia sus respectivos *estándares de referencia* (ya sean estos clínicos o epidemiológicos), presentan menos de 100% de SEN y 100% de SPEC » [55].

En función de la magnitud de los respectivos *valores predictivos* o *probabilidades de verosimilitud* (**secciones 10.1, 10.2.3, y 10.3.3**), los pronósticos clínicos basados en la preclínica actual, no son más que: « la mejor previsión, tanto falible como provisional, que tenemos acerca de la realidad clínica de las sustancias, de acuerdo con **(1)** el conocimiento farmacológico (o toxicológico) de la era, y **(2)** la capacidad predictiva de los bioensayos de la época ». Permítanos discutir más sobre lo anterior, usando como ejemplo algunos resultados de esta tesis. Por ejemplo. Si la probabilidad de *carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión*, de los siguientes 4 *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico* (ya establecidos por la epidemiología analítica), se estima mediante la metodología empleada por esta tesis para cumplir con el **objetivo específico #4**, se evidencia lo discutido en el párrafo anterior. Los cuatro *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*, son los siguientes: **(1)** *Sodium arsenite* (CASRN® 7784-46-5); **(2)** *Sodium arsenate* (CASRN® 7631-89-2); **(3)** *Lead arsenate* (CASRN® 7784-40-9), y **(4)** *Chrysotile asbestos* (CASRN® 12001-29-5) (**Tabla A5**).

Esos 4 *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico* concurren con **(1)** una ausencia de carcinogénesis química en el RCB (**Tabla A5**), y con **(2)** una Ausencia de (incrementos estadísticamente significativos en la incidencia de) Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB (**Tabla 14**). Notablemente, para esos 4 *carcinógenos de humanos*, la metodología de esta tesis arrojaría un VPN Bayesiano de 96% (es decir, el mismo VPN Bayesiano estimado por esta tesis para las sustancias del objetivo específico #4; **Tabla 18**). Si la ~*carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión*~ de esas 4 sustancias se desconociera epidemiológicamente, entonces, erróneamente asumiríamos a dichas sustancias (que en realidad son connaturalmente carcinogénicas para los humanos) como *carentes de carcinogenicidad innata para los humanos*, con base en el VPN Bayesiano (igual a 96%) de los resultados entregados por el RCB, y la preclínica actual.

Lo anterior llama a una discusión acerca de: «¿Cómo deberían interpretarse las probabilidades de *carcinogenicidad* (o *carencia de carcinogenicidad*) *innata para los humanos* reportadas en esta tesis? ». Desde su base estadística, los *valores predictivos bayesianos* y las *probabilidades de verosimilitud* pueden interpretarse como: « la probabilidad numérica de que, el resultado entregado para una determinada sustancia por el

bioensayo en cuestión, concuerde (y, por lo tanto, correctamente prediga) el desenlace de dicha sustancia en el (método) estándar de referencia simulado por dicho bioensayo » [55]. Usando como ejemplo a las sustancias del **objetivo específico #4**, permítanos ahora compartir una interpretación más consonante con el carácter falible de los pronósticos basados en la preclínica actual. Esta tesis encontró un 96% de probabilidad de que las sustancias del **objetivo específico #4** carezcan de *carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión* (Tabla 18). Sin embargo, sólo las probabilidades iguales a 100% establecen (o revelan) lo que realmente acontecerá.

Así, puede deducirse lo siguiente: « en aproximadamente el 4% de los casos, la metodología de esta tesis fallará al indicar la ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos~ de sustancias (no-genotóxicas, negativas a carcinogénesis química en el RCB, y negativas a lesiones pre-neoplásicas en el RCB) que, en realidad, sí son connaturalmente carcinogénicas para los humanos (p. ej., *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* aún desconocidos por la epidemiología analítica) ». Desde el punto de vista probabilístico, esta tesis podría haber errado al pronosticar la ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ de hasta 3 (es decir, del 4%) de las 68 sustancias del **objetivo específico #4** (Tabla 18). Por más impactante o desconcertante que sea, el que esta tesis pueda errar al indicar la ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ del 4% de las sustancias del **objetivo específico #4**, dicho margen de error no invalida **(1)** la ciencia detrás de estos pronósticos preclínicos; **(2)** la relevancia clínica o epidemiológica de, por lo menos, el 96% de los mismos, ni **(3)** la necesidad (de los consumidores, gobiernos, o de la industria) de contar con las mejores predicciones preclínicas que, por las limitaciones de la ciencia de la época, no son infalibles.

13.5. Sobre el pronóstico de ~*carcinogenicidad innata para los humanos*~ de las sustancias del objetivo específico #3

13.5.1. Base farmacológica y toxicológica

En la literatura, las sustancias del **objetivo específico #3** (Tabla 17) presentaron un claro ~patrón experimental de genotoxicidad~ (Tabla A8). Además, las sustancias del **objetivo específico #3** se caracterizan por actuar mediante *mecanismos de acción farmacológica* considerados en la literatura como causantes de la mutagénesis y genotoxicidad (Tabla A8). De acuerdo con la literatura, para las sustancias del **objetivo específico #3**, hay cierta evidencia mostrando que la gran mayoría de ellas actúa mediante alguno de los siguientes mecanismos de acción genotóxica (en adición a los otros mecanismos de acción farmacológica que dichas sustancias puedan tener): **(1)** intercalado en el ADN, acoplado con la inhibición o envenenamiento de topoisomerasas celulares [116-118]; **(2)** unión al surco menor del ADN [119]; **(3)** inhibición o envenenamiento de topoisomerasas celulares [120,121], **(4)** aducción covalente al ADN [122,123], o **(5)** aducción oxidativa sobre el ADN (p. ej., 8-oxoG; 8-OH-dG) (Tabla A8) [124,125]. Sin embargo, en términos experimentales, aún se desconoce cuál es el *mecanismo de acción genotóxica* de algunas sustancias del **objetivo específico #3** (p. ej., *hydroxyurea*) (Tabla A8).

A juzgar por su clara mutagenicidad, genotoxicidad, y carcinogénesis química en roedores (Tabla A8), se puede plantear que: las sustancias del **objetivo específico #3** con *mecanismos de acción genotóxica* experimentalmente desconocidos, actuarían mediante alguno de los mecanismos de mayor potencia mutagénica, tales como los mencionados en el párrafo anterior. Para otras sustancias del **objetivo específico #3**, en términos experimentales, tampoco se han estudiado sus mecanismos de acción genotóxica (p. ej., *furylfuramide*; *nifurtimox*; *carbadox*). Sin embargo, varias sustancias del **objetivo específico #3** con *mecanismos de acción genotóxica* experimentalmente desconocidos, comparten toxicóforos (o farmacóforos) con otros agentes químicos de la Tabla 17, cuya mutagenicidad y genotoxicidad ha sido experimentalmente atribuida a dichos farmacóforos (Tabla A8). Los siguientes son ejemplos de tales casos. Toxicóforo mutagénico: *5-nitrofurán* (CASRN® 609-39-2), sustancias del **objetivo específico #3** con dicho toxicóforo (y con un *mecanismo de acción genotóxica* experimentalmente desconocido): *furylfuramide* (CASRN® 3688-53-7) y *nifurtimox* (CASRN® 23256-30-6). Toxicóforo genotóxico: *quinoxaline 1,4-dioxido* (CASRN® 2423-66-7), sustancia del **objetivo específico #3** con dicho toxicóforo (y con un mecanismo de acción genotóxica experimentalmente desconocido): *carbadox* (CASRN® 6804-07-5).

Continuando con el ejemplo anterior, la evidencia experimental muestra que los toxicóforos **(1)** *5-nitrofurán* (CASRN® 609-39-2), y **(2)** *quinoxaline 1,4-dioxido* (CASRN® 2423-66-7), están asociados a los siguientes *mecanismos de acción mutagénica*: aducción covalente al ADN, y aducción oxidativa sobre el ADN, respectivamente [126-134]. La literatura sugiere que, los *mecanismos de acción mutagénica* mencionados previamente (p. ej., inhibición de topoisomerasas; unión al surco menor del ADN), operan en múltiples especies de mamíferos, incluyendo a los humanos (Tablas A1, A2, A8, y A9). Así, según la base farmacológica resumida arriba, tiene relevancia para la salud humana la elevada probabilidad de *carcinogenicidad innata para los humanos* estimada aquí para las sustancias del **objetivo específico #3** (PVP >95%; Tabla 17). En consecuencia. Si consideramos lo devastador que es el cáncer para las personas, y lo perjudicial que es el cáncer para la sociedad como un todo, resulta razonable asumir a las sustancias con una probabilidad de carcinogenicidad innata para los humanos $\geq 95\%$, como *connaturalmente carcinogénicas para los humanos* [55].

13.5.2. Potencial relevancia clínica y reguladora

Los pronósticos de ~carcinogenicidad innata para los humanos~ entregados por esta tesis para las sustancias del **objetivo específico #3** (Tabla 17), se basaron en la capacidad predictiva del RCB con respecto de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico con alta potencia genotóxica*. Desde los resultados de carcinogénesis química entregados por el RCB para las sustancias del **objetivo específico #3** (Tabla A8), y mediante los desarrollos estadísticos concatenados a lo largo de este manuscrito, se logró estimar aquí que: como mínimo, o en el mejor de los casos, hay 95% de probabilidad de que las sustancias del **objetivo específico #3** sean *connaturalmente carcinogénicas para los humanos*. En la literatura [84], hemos acuñado el término de *toxicidad innata* (o *toxicidad connatural*) para mencionar: « la habilidad que tienen ciertas sustancias de incrementar el chance de respuestas tóxicas en determinadas especies, específicamente, en condiciones de exposición lo **suficientemente riesgosas** (p. ej., a dosis lo suficientemente altas; en exposiciones lo suficientemente frecuentes; en exposiciones lo suficientemente prolongadas).

Considerando la finalidad del RCB, y el sentido metodológico de las *probabilidades de verosimilitud positiva* (PVP) estimadas aquí para las sustancias del objetivo específico #3 (Tabla 17), se puede interpretar que las PVPs hacen referencia a: « la probabilidad de que, en condiciones de exposición (o tratamiento) lo suficientemente riesgosas, las sustancias del **objetivo específico #3** aumenten el chance de neoplasia en los humanos expuestos a dichas sustancias ». Desde luego, para las sustancias del **objetivo específico #3**, la pregunta subsecuente es: ¿Específicamente, cuáles son esas condiciones de exposición lo suficientemente riesgosas, en las que dichas sustancias incrementarán el chance de neoplasia en las personas expuestas a (o tratadas con) las mismas? Circunstantialmente, dicha pregunta escapa del alcance de esta tesis, porque la misma cae dentro del campo toxicológico conocido como la *caracterización del riesgo*. No obstante, la predicción preclínica de la ~carcinogenicidad innata para los humanos~ de ciertas sustancias, ha sido reconocida como un aporte valioso para la salud pública, en materia de la *prevención primaria* del cáncer infligido por agentes químicos [136,137].

En términos de *carcinogenicidad innata para los humanos*, varias sustancias del **objetivo específico #3** ya están clasificadas como **(1)** *probablemente carcinogénicas para los humanos*, por parte de la IARC [57]; **(2)** *probables de ser carcinogénicas para los humanos*, por parte de la U.S. EPA [58], o como **(3)** *razonablemente pronosticadas de ser carcinógenos de humanos*, por parte del U.S. NTP [59]. Dos razones explican lo anterior. Primero, para varias sustancias del **objetivo específico #3** dichas instituciones encontraron ya sea *inadecuada* o *limitada (mas insuficiente)* evidencia epidemiológica de carcinogénesis química en humanos, lo que temporalmente impide reconocer causalidad entre la exposición a esas sustancias y el cáncer humano [57-59]. Segundo, dichas instituciones adjudicaron a varias sustancias del **objetivo específico #3** con tales clasificaciones (p. ej., *probablemente carcinogénicas para los humanos* - IARC) con base en **(1)** la patente genotoxicidad experimental, y **(2)** la clara carcinogénesis provocada en el RCB por dichas sustancias (Tablas A8 y A9).

Sin embargo, la clasificación cualitativa de sustancias en términos tan generales como *probablemente carcinogénica para los humanos* – IARC) deja considerable espacio para el escepticismo de las partes involucradas (p. ej., legisladores, facultativos); por ejemplo, con preguntas tales como: *¿Qué tan probable es la carcinogenicidad para los humanos de esta sustancia; 30%, 60%, 90%, cuánto?* Para las sustancias del **objetivo**

específico #3 ya clasificadas por dichas instituciones con alguna de esas categorías respecto de la *carcinogenicidad innata para los humanos* de ciertas sustancias (p. ej., *razonablemente pronosticada de ser un carcinógeno de humanos* – U.S. NTP), esta tesis contribuye el siguiente aporte. En vez de señalar la probable *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias del **objetivo específico #3** en términos **cuantitativos**, esta tesis entrega una **cuantificación** del tamaño de dicha probabilidad de carcinogenicidad innata. Según los resultados de esta tesis, como mínimo, hay 95% de probabilidad de que las sustancias del **objetivo específico #3** sean *connaturalmente carcinogénicas para los humanos* por las vías de exposición especificadas en la **Tabla 17**. Si, de acuerdo con esta tesis, las sustancias del **objetivo específico #3** se asumiesen (o regulasen) como *connaturalmente carcinogénicas para los humanos*, es importante recordar lo siguiente.

Dependiendo de **(1)** el paradigma regulador de cada entidad gubernamental, y **(2)** del uso (o *potencial uso*, en caso que la comercialización de la sustancia aún no esté aprobada) de la sustancia en la sociedad, las agencias reguladoras emplean distintas prácticas para: « gestionar el riesgo de cáncer humano, presumiblemente impuesto por los mutágenos cuya carcinogenicidad para los humanos ya fue advertida por la toxicología preclínica ». Revisar todas las prácticas de las agencias reguladoras para gestionar dichos riesgos, escapa del alcance de esta tesis. Sin embargo, para ojear algunos ejemplos de tales prácticas, permítanos mencionar primero tres consideraciones. Primero, notemos que cada una de las sustancias del **objetivo específico #3** puede tener distintos usos en la sociedad. Segundo, consideremos que todas las sustancias del **objetivo específico #3** son *carcinógenos genotóxicos*. Para los *carcinógenos genotóxicos*, es generalmente aceptado que no habría dosis seguras (es decir: dosis que no incrementen proporcionalmente el riesgo de cáncer, independientemente de lo diminuta que sea la dosis, y de lo minúsculo que sea el aumento en el riesgo de cáncer) [138].

Veamos ahora algunos ejemplos de prácticas empleadas por las agencias reguladoras para gestionar el riesgo neoplasia humana por la exposición a *carcinógenos genotóxicos*. Verde de leucomalaquita (una de las sustancias del **objetivo específico #3**), es un metabolito persistente en los animales tratados con el colorante (antimicrobiano) *verde de malaquita* (CASRN® 569-64-2) (**Tabla 17**; **Tablas A8 – A9**). Verde de leucomalaquita (CASRN® 129-73-7) se encuentra **(1)** desautorizado en los EUA y la Unión Europea para uso veterinario en animales productores de alimentos (incluida la piscicultura), y **(2)** en esos mismos países, *verde de leucomalaquita* también está desaprobado como residuo farmacológico en alimentos para humanos de origen animal [75]. En cambio, el promotor de crecimiento animal y antimicrobiano *carbadox* (otra de las sustancias del **objetivo específico #3**), pese a estar prohibido en Australia y Canadá para uso en animales productores de alimentos para humanos, sí se encuentra autorizado en los EUA para uso veterinario en cerdos destinados al consumo humano [75]. Ahora, pese a estar aprobado en los EUA para uso veterinario en cerdos productores de alimentos, *carbadox* (CASRN® 6804-07-5) está prohibido en ese mismo país como *residuo farmacológico* en alimentos de origen animal [139].

Así como otras agencias para con otros fármacos de uso en animales productores de alimentos, la FDA de los EUA (U.S. FDA) consigue un ~mercado nacional de la carne porcina libre de *carbadox* ~ mediante una regulación que prohíbe el tratamiento de los cerdos con *carbadox* dentro de los 42 días previos al sacrificio de los mismos [139]. Dicha regulación se basa en una noción de la farmacología reguladora conocida como el *tiempo de retiro* [140]. Cuando la U.S. FDA aprobó al *carbadox* para uso en cerdos productores de alimentos para humanos, la *toxicología analítica* de la época mostraba que: « el tratamiento de los cerdos con *carbadox* a los 43 (o más) días antes del sacrificio, no producía residuos detectables (de *carbadox* o de sus metabolitos) en la carne resultante del sacrificio » [139]. La U.S. FDA estableció el *tiempo de retiro* del *carbadox* basado en la bio-persistencia del

metabolito *quinoxaline-2-carboxylic acid* (un metabolito presuntamente no-carcinogénico, según los análisis de estructura-actividad) [171]. La U.S. FDA estableció al *quinoxaline-2-carboxylic acid* (QCA) como *metabolito marcador* porque, según la toxicología analítica de la época, ese era el metabolito más bio-persistente del *carbadox* [171]. En consecuencia, la vigilancia gubernamental para que la carne porcina de los EUA carezca de residuos de *carbadox*, se basa en la detección del metabolito QCA en muestras de carne porcina [171]. Sin embargo, nuevos estudios de *toxicología analítica* muestran que: metabolitos del *carbadox* que han resultado carcinogénicos en el RCB (a saber, el metabolito *desoxycarbadox*), persisten en los cerdos más de lo que se creía inicialmente [171]. Como no se ha establecido alguna relación entre **(1)** la bio-persistencia del metabolito marcador QCA, y **(2)** la bio-persistencia del metabolito carcinogénico *desoxycarbadox*, el Centro de Medicina Veterinaria (CVM) de la U.S. FDA concluyó lo siguiente.

«Según el *tiempo de retiro* vigente en los EUA para el *carbadox*, y la vigilancia basada en la detección del metabolito QCA, la agencia (U.S. FDA) desconoce si persisten metabolitos carcinogénicos del *carbadox* en la carne porcina de los EUA» [171]. Como resultado, el CVM (de la U.S. FDA) pretende revocar la detección del QCA como **(1)** método de vigilancia gubernamental de los residuos de *carbadox* en la carne porcina, y **(2)** como base farmacocinética para establecer el *tiempo de retiro* del *carbadox* [171]. Por mandato legislativo, la U.S. FDA no puede autorizar el uso como *aditivo alimentario* (p. ej., como *saborizantes* en alimentos para el consumo humano) de sustancias que hayan infligido neoplasia en humanos (según la epidemiología) o en animales de laboratorio (p. ej., según los resultados del RCB) [141]. Sin embargo, bajo el precedente conocido como la *salvedad dietilestilbestrol*, la U.S. FDA autorizó algunos colorantes como aditivos alimentarios (p. ej., D&C Green No. 6), y sostuvo la autorización para uso en cerdos productores de alimentos del promotor de crecimiento (y estrógeno no-esteroide) *dietilestilbestrol* (DES), aun cuando la agencia sabía que ambas sustancias resultaron ser carcinogénicas en el RCB [142]. En estado puro, la molécula colorante presente en la mezcla conocida como D&C Green No. 6 (CASRN® 128-80-3), no incrementó la incidencia de tumores en el RCB [142].

El argumento de la U.S. FDA para autorizar la comercialización de esas sustancias fue: «según los modelos matemáticos, tanto las impurezas carcinogénicas presentes en el colorante **D&C Green No. 6**, como el propio **DES**, en las cantidades presentes en los alimentos como resultado de las regulaciones de esta agencia, provocarían un incremento en el riesgo de cáncer de los consumidores de **1 en 1 millón** (es decir, un incremento en el riesgo de 0.0001%)» [142]. Según dicha política (o regulación) de la U.S. FDA, en dosis o concentraciones que incrementen el riesgo de cáncer humano en hasta **0.0001%**, las sustancias *~connaturalmente carcinogénicas para los humanos~* pueden considerarse como *~insignificantemente tóxicas~*, lo que las hace autorizables como aditivos en alimentos para humanos, o como residuos farmacológicos en alimentos de origen animal [142]. De hecho, considerar cierto exceso en el riesgo de cáncer humano como *acceptable* (o *permisible*), es una práctica convencional en distintas esferas de la toxicología o farmacología reguladora.

Por ejemplo. En los ambientes laborales de Suecia, está autorizado que los carcinógenos respirables alcancen una concentración máxima correspondiente con un incremento en el riesgo de cáncer humano de **0.001%** (o **1 en 100.000**) [138]. En el caso de los fármacos de la medicina humana, es universal la política sanitaria de autorizar drogas con *toxicidad connatural para los humanos* en los siguientes casos. Uno, si los funcionarios médicos de la agencia concluyen que, para la indicación (o condición médica) en cuestión, los *beneficios por el uso del fármaco superan los riesgos* (es decir, los beneficios deben superar tanto el riesgo de respuestas adversas, como las consecuencias médicas de tales respuestas adversas). Dos, y en el caso particular de los

fármacos que resultan ser carcinogénicos en el RCB, si los reguladores declaran lo siguiente: “*Con respecto de su uso terapéutico en humanos, se desconoce la significación de la carcinogenicidad de este fármaco en el RCB*” [143]. Respecto de este último ejemplo (a saber, ciertos fármacos que han resultado carcinogénicos en el RCB), la contribución de esta tesis es alertar a las autoridades sobre la enorme probabilidad numérica de que los fármacos del **objetivo específico #3** sean connaturalmente carcinogénicos para los humanos (Tabla 17). Para otros agentes químicos con *potencia genotóxica* y *potencia carcinogénica (en el RCB)* similar a las sustancias del **objetivo específico #3**, la epidemiología encontró importantes incrementos en el riesgo de cáncer humano (Tabla A1). Así, en ausencia de las más adecuadas regulaciones, la exposición humana a (o el tratamiento de personas con) las sustancias del **objetivo específico #3** traería perjuicios sobre la salud pública (Tabla 17).

Ya corresponde a cada agencia gubernamental, mediante las mejores prácticas reguladoras del caso (p. ej., para los fármacos de uso en animales productores de alimentos para humanos; para los residuos de drogas pesticidas en alimentos de origen vegetal para consumo humano): **(1)** considerar o no a las sustancias del **objetivo específico #3** como *carcinógenos de humanos de tipo genotóxico*; **(2)** en el caso de las sustancias del **objetivo específico #3** que ya están autorizadas para su comercialización, re-evaluar si la comercialización de las mismas trae más beneficios que perjuicios a la sociedad (o viceversa); **(3)** conducir, financiar, o solicitar (a la industria) los estudios que permitan gestionar adecuadamente el riesgo de neoplasia humana que, según esta tesis, impondrían las sustancias del **objetivo específico #3**, y **(4)** fiscalizar (o vigilar el cumplimiento de) las regulaciones que la agencia considere necesarias, para cumplir con la gestión del riesgo de cáncer previamente mencionado. En tal sentido, esta tesis identificó algunas drogas (o principios activos) del **objetivo específico #3**, cuya actual autorización en la medicina humana resulta cuestionable (Tabla 19; Tabla 20); lo anterior, porque los beneficios terapéuticos podrían no justificar las consecuencias de los riesgos de neoplasia.

Primero, permítanos recordar que varios fármacos (p. ej., azatioprina; fenacetina; Tabla A1) con *potencia mutagénica* y *carcinogénica* semejante a los ~fármacos del **objetivo específico #3** especificados abajo~, sí aumentaron notablemente el riesgo de neoplasia humana, a dosis y esquemas de tratamiento considerados como terapéuticos (Tabla A2). Por tanto, resulta cuestionable que las siguientes indicaciones (o condiciones médicas) puedan justificar el uso en humanos de los siguientes fármacos (mutagénicos y carcinogénicos en el RCB) del **objetivo específico #3**: **(1)** *alivio de los síntomas incómodos causados por la irritación de la mucosa del tracto urinario inferior*, en el caso de la fenazopiridina (CASRN® 94-78-0; Tabla 17) [144], y **(2)** *tratamiento de infecciones agudas y no-complicadas del tracto urinario*, en el caso de la nitrofurantoina (CASRN® 67-20-9; Tabla 17) [144]. Para otros fármacos del **objetivo específico #3**, algunos casos sí podrían justificar el potencial riesgo de neoplasia humana impuesto por tales drogas; situaciones tales como: casos clínicos *refractarios* (o *insuficientemente responsivos*) a los otros medicamentos disponibles para tratar la enfermedad.

Los siguientes son algunos ejemplos de lo anterior: **(1)** las *convulsiones de inicio focal*, en el caso de la oxcarbazepina (CASRN® 28721-07-5; Tabla 17) [144], y **(2)** la *hipertensión maligna esencial* o *hipertensión provocada por feocromocitomas*, en el caso de la fenoxibenzamina (CASRN® 59-96-1; Tabla 17) [144]. Ahora, incluso si los beneficios terapéuticos justifican los potenciales riesgos de neoplasia impuestos por el uso médico de la *oxcarbazepina* o *fenoxibenzamina*, los resultados de esta tesis sugieren que es necesario colocar advertencias en la *información de prescripción* de esos medicamentos. En particular, advertencias que promuevan la prescripción de esos fármacos del **objetivo específico #3**, sólo en los siguientes casos. Uno, cuando no haya en el mercado otros fármacos efectivos para las respectivas indicaciones (o condiciones médicas).

Dos, cuando los otros fármacos que son efectivos para tratar dicha condición médica, resultaron ser ineficaces en el paciente. Por ahora, algunas drogas del [objetivo específico #3](#) son la única opción con autorización gubernamental para el tratamiento de ciertas enfermedades que **(1)** pueden ser discapacitantes; **(2)** que acortan la *expectativa de vida*, o **(3)** que son potencialmente letales. Los siguientes son algunos ejemplos de lo anterior: **(1)** la enfermedad de Chagas, en el caso del *benznidazol* o el *nifurtimox* ([Tabla 17](#); [Tabla 19](#)), y **(2)** la meningitis bacteriana o la sepsis bacteriana (entre otras infecciones graves para las que está sanitariamente autorizado el metronidazol), en el caso del *metronidazol* ([Tabla 17](#); [Tabla 19](#)). Por otra parte. Para aquellas enfermedades que tienen graves consecuencias para la salud, y que carecen de opciones terapéuticas efectivas, no se necesita de estudios sofisticados para reconocer que: « es una medida provisional justificada, la autorización sanitaria de ~mutágenos con 95% de probabilidad de carcinogenicidad innata para los humanos~, tales como las drogas o fármacos del [objetivo específico #3](#) (p. ej., benznidazol, metronidazol, nifurtimox, nitrofurantoina; [Tabla 19](#)) ».

Lo anterior no cancela la necesidad de que la farmacia desarrolle nuevas drogas que, conservando la eficacia terapéutica (p. ej., efectividad anti-chagásica; anti-convulsivante; anti-hipertensiva) de sus antecesores (p. ej., antecesores tales como nifurtimox, oxcarbazepina, fenoxibenzamina; [Tabla 19](#)): **(1)** carezcan de *carcinogenicidad innata para los humanos*, o que **(2)** por lo menos, tengan una *potencia carcinogénica* mucho menor que sus antecesores (lo que resultaría en un riesgo de cáncer iatrogénico mucho menor, comparado con los fármacos predecesores). Para las drogas del [objetivo específico #3](#) que están autorizadas en el tratamiento de dolencias distintas al cáncer ([Tabla 19](#)), consideramos necesario que: **(1)** se caracterice cuál es el incremento en el riesgo de cáncer por el tratamiento con esos fármacos (p. ej., mediante farmacovigilancia), y **(2)** que se revise cuál es la letalidad a corto y largo plazo de los cánceres iatrogénicos causados por el fármaco.

Así, con el tiempo, podrá re-evaluarse (con más y mejores datos) si los beneficios del fármaco exceden sus perjuicios sobre la salud. Teniendo en cuenta el importante riesgo de neoplasia iatrogénica, observado por el tratamiento de personas con otros fármacos que, así como las sustancias del [objetivo específico #3](#), también son *carcinógenos de alta potencia mutagénica* (p. ej., azatioprina; fenacetina; [Tabla A1](#)), resulta recomendable incluir advertencias en las *informaciones de prescripción* de los fármacos del [objetivo específico #3](#) acerca de **(1)** su enorme probabilidad numérica de *carcinogenicidad innata para los humanos*, y **(2)** los significativos riesgos de neoplasia iatrogénica impuestos por los mismos. Una revisión del asunto muestra que, aunque se ha avanzado significativamente en la inclusión de tales advertencias en el caso de los fármacos del [objetivo específico #3](#) de uso *anti-neoplásico* ([Tabla 20](#)), casi todos los fármacos del [objetivo específico #3](#) de uso *no-antineoplásico* carecen actualmente de advertencias (o de avisos lo suficientemente claros) acerca de **(1)** su enorme probabilidad numérica de *carcinogenicidad innata para los humanos*, y **(2)** de los significativos riesgos de neoplasia impuestos por el tratamiento con los mismos ([Tabla 20](#); [Tabla 19](#)).

Adicionalmente, dichas advertencias podrían acompañarse con recomendaciones que promuevan: el mayor rigor en el diagnóstico diferencial y confirmatorio (de que los pacientes sí padecen las dolencias para las que están autorizados los fármacos del [objetivo específico #3](#)), antes de incurrir en la prescripción, dispensación, o administración/suministro de dichos fármacos. Como observamos en una pequeña minoría de las *informaciones de prescripción*, ya aprobadas por la U.S. FDA para los fármacos del [objetivo específico #3](#) de uso anti-neoplásico ([Tabla 19](#)), se debería orientar a los pacientes sobre la importancia de que busquen seguimiento clínico, desde el *mediano* hasta el *muy largo* plazo, para tratar oportunamente cualquier neoplasia que haya podido ser causada por el tratamiento con los fármacos del [objetivo específico #3](#). Por último, discutiremos sobre las vías de

exposición a las que aplican los pronósticos de *carcinogenicidad innata para los humanos* reportados por esta tesis. Desde la farmacología experimental, se sabe que: las sustancias que tienen actividad biológica en roedores de laboratorio mediante una vía de tratamiento, también son biológicamente activas en humanos por la misma vía de tratamiento (ya sea en mayor o menor grado de actividad, o con la misma u otra actividad biológica). En consecuencia, esta tesis plantea que: « la enorme probabilidad numérica de *carcinogenicidad innata para los humanos* de las sustancias del **objetivo específico #3**, aplica para las mismas vías de exposición por las que se observó la carcinogénesis química de la sustancia en el RCB (Tabla A8) ». Desde la toxicología, también se sabe que: las sustancias que resultan en mutagénesis o carcinogénesis por vía oral (ya sea en humanos o en mamíferos de laboratorio), también resultan en mutagénesis o carcinogénesis por vía de la inyección o del implante (p. ej., intramuscular; subcutánea; intravenosa) (Tabla A1; Tabla A8). Una explicación para lo anterior es la siguiente: la biodisponibilidad de las distintas formas de inyección o de implante, siempre es *mayor o igual* que la biodisponibilidad de la vía oral. Por ende, mediante la inyección o el implante, la actividad biológica (p. ej., la actividad mutagénica) de una sustancia es *mayor o igual* que su actividad biológica por vía oral.

Consecuentemente, esta tesis plantea lo siguiente: « la enorme probabilidad numérica de *carcinogenicidad innata para los humanos*, de las sustancias del **objetivo específico #3** que resultaron carcinogénicas en el RCB mediante ingestión (Tabla A8), aplica en humanos para las distintas formas de inyección o de implante (p. ej., inyección intraarterial; inyección intratecal; implante subdérmico) ». Según los datos analizados por esta tesis, los *~genotóxicos de alta potencia~* que son carcinogénicos en el RCB mediante inyección, tienden a ser carcinogénicos en el RCB por vía oral (Tabla A1; Tabla A8). Al respecto, la toxicología experimental muestra que: en el caso de los *genotóxicos de alta potencia* (p. ej., la *bencidina*; la *2-naftilamina*), una biodisponibilidad oral de 11% basta para que estas sustancias resulten carcinogénicas en el RCB [84]. Esta tesis plantea que, en algunos casos basados en la farmacodinamia o farmacocinética de la sustancia (Tabla 8), resulta razonable asumir que: « la enorme probabilidad numérica de *carcinogenicidad innata para los humanos*, de las sustancias del **objetivo específico #3** que resultaron carcinogénicas en el RCB mediante inyección, aplica en humanos por vía oral (Nota: dicha *~carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~* tiene en cuenta la posible neoplasia intestinal, la cual es factible incluso si la mutagenicidad de la sustancia se inactiva durante su primer paso por el hígado) ».

Los casos basados en la farmacodinamia o farmacocinética de la sustancia, que permitirían extrapolar a la vía oral de los humanos la carcinogenicidad observada en el RCB por inyección, se especifican en la Tabla 8 (sección 9.3.3). Dichos casos se fundamentaron en distintos tipos de evidencia que indican actividad biológica por vía oral, para las sustancias del **objetivo específico #3** que resultaron carcinogénicas en el RCB mediante inyección. Por ejemplo, si una sustancia es biológicamente activa (p. ej., terapéuticamente activa) por vía oral, es porque su biodisponibilidad oral así lo permite. Por consiguiente, en condiciones de exposición (o tratamiento) lo suficientemente riesgosas (p. ej., a dosis lo suficientemente altas), dicha *biodisponibilidad oral* permitirá que opere la *carcinogenicidad innata* que, para la sustancia del **objetivo específico #3** en cuestión, ya fue evidenciada en el RCB mediante inyección. (Nota: en parte, esta deducción se basa en el concepto conocido como *poli-farmacología*; con el agravante de que la biomolécula diana de la *mutagenicidad* de las sustancias del **objetivo específico #3**, el ADN, es ubicuo en todos los tejidos humanos).

13.6. Sobre la predicción de ~*carencia de carcinogenicidad innata para los humanos*~ de las sustancias del objetivo específico #4

13.6.1. Discusión sobre aspectos metodológicos

En esta tesis, **(1)** la ausencia de carcinogénesis química en el RCB, y **(2)** la carencia de genotoxicidad en las pruebas de toxicología genética, fueron dos aspectos necesarios para dilucidar la probabilidad numérica de ~*carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión*~ de las sustancias del **objetivo específico #4** (secciones 10.3.2, 13.3, y 13.4). Sin embargo, aclaramos que varias sustancias del **objetivo específico #4** no han sido ensayadas en las pruebas de genotoxicidad o en el RCB (Tabla A10; Tabla 18). La Tabla A10 muestra que, los desenlaces de las sustancias del **objetivo específico #4** que no han sido ensayadas en tales pruebas de toxicidad, fueron extrapolados aquí desde otras sustancias con elevada **(1)** analogía estructural, **(2)** semejanza farmacológica, y **(3)** similitud toxicológica, que sí fueron ensayadas tanto en el RCB como en las pruebas de genotoxicidad. Entonces, el objetivo de esta sección es discutir sobre los argumentos farmacológicos y toxicológicos en los que se basaron dichas extrapolaciones. En el caso de los colorantes del **objetivo específico #4** (Tabla 18), los resultados en el RCB y en las pruebas genotoxicidad del colorante en su típico estado salino (p. ej., como *sal de sodio*), se extendieron aquí a otras formas salinas de la misma molécula colorante (p. ej., a la *sal de calcio*), en función de lo que se explica a continuación.

Primero. Los desenlaces (p. ej., ausencia de carcinogénesis química en el RCB) se extendieron aquí a otras formas salinas del mismo colorante, específicamente, a las sales derivadas de otros cationes fisiológicos (p. ej., a las *sales de calcio*, *sales de potasio*, o *sales de sodio* de la misma molécula colorante). Segundo, los desenlaces (p. ej., carencia de genotoxicidad) se extendieron aquí a las *sales de aluminio* del mismo colorante (Nota: las sales de aluminio de los colorantes se denominan *lacas*. Típicamente, las lacas se usan como colorantes de alimentos por algunas ventajas que ofrecen en comparación con las otras formas salinas del mismo colorante, que se caracterizan por una alta solubilidad acuosa). Aunque no han sido ensayadas en el RCB ni en las pruebas de genotoxicidad, las *lacas* de los colorantes del **objetivo específico #4** se asumieron aquí como negativas a dichas pruebas de toxicidad (p. ej., se reconocieron aquí como ~concurrentes con una ausencia de carcinogénesis química en el RCB~), basado en la siguiente argumentación. Uno. Porque para los colorantes del **objetivo específico #4**, las *lacas* difieren de las *sales derivadas de cationes fisiológicos* sólo en: el reemplazo de los cationes fisiológicos por iones de aluminio (p. ej., ver Fig. 5) [Nota: todas las estructuras bidimensionales que se muestran a continuación, fueron tomadas del servicio gratuito conocido como U.S. NLM PubChem].

Dos. Tanto los *iones de aluminio* en solitario, como ciertos *compuestos del aluminio* (p. ej., *trisulfato de dialuminio*; *aluminio monofosfato*), resultaron todos negativos a **(1)** carcinogenicidad por la vía oral del RCB, y **(2)** negativos a genotoxicidad en distintas pruebas de toxicología genética [145,146]. Para citar un ejemplo, permítanos diferenciar primero entre dos variantes de un mismo colorante. La *tartrazina* (FD&C Yellow #5; CASRN® 1934-21-0), es la sal sódica de la respectiva molécula colorante (Fig. 5A). Por su parte, la *laca de la tartrazina* (FD&C Yellow #5 Aluminum Lake; CASRN® 12225-21-7), es la sal de aluminio de ese mismo colorante (Fig. 5B). Aunque la *laca de la tartrazina* (CASRN® 12225-21-7) no ha sido ensayada en el RCB ni en las pruebas de genotoxicidad, esta tesis estimó la ~probabilidad numérica de que la *laca de la tartrazina* carezca de carcinogenicidad innata

para los humanos por ingestión~, extendiendo (o extrapolando) los desenlaces (en el RCB y en las pruebas de genotoxicidad) de la *tartrazina* (CASRN® 1934-21-0) a la *laca de la tartrazina* (CASRN® 12225-21-7) (Tabla A10). Para cada sustancia del objetivo específico #4 (Tabla 18), la Tabla A10 muestra (1) si la misma fue ensayada (o no) en el RCB y en las pruebas de genotoxicidad, y (2) para las sustancias que no han sido ensayadas en dichas pruebas de toxicidad, la Tabla A10 especifica el agente químico desde el cual se extrapolaron los resultados (a la sustancia no-ensayada), de acuerdo con los argumentos farmacológicos y toxicológicos discutidos en esta sección. Continuando con dichos argumentos. Los resultados del colorante Patent Blue V (t.c.c. C.I. Food Blue 5, CASRN® 3536-49-0) en las pruebas de genotoxicidad y en el RCB, fueron extrapolados aquí al colorante Patent Blue VF (t.c.c. C.I. Food Blue 3, CASRN® 129-17-9) (Tabla A10).

En tal sentido, Patent Blue VF (CASRN® 129-17-9) difiere de Patent Blue V (CASRN® 3536-49-0) sólo en la carencia de un grupo hidroxilo que, en Patent Blue V (CASRN® 3536-49-0), está presente en uno de los tres fenilos que tienen estos dos colorantes (Figura 6). Aunque la ausencia de ese grupo hidroxilo en Patent Blue VF (CASRN® 129-17-9) podría modificar sus propiedades farmacocinéticas con respecto de Patent Blue V (CASRN® 3536-49-0) (p. ej., aumentando ya sea la *C_{max}* o la *semivida de eliminación*), dichos cambios farmacocinéticos no otorgarían *carcinogenicidad innata* a Patent Blue VF (CASRN® 129-17-9), considerando lo siguiente. Aunque Patent Blue VF y Patent Blue V poseen el mismo toxicóforo potencialmente mutagénico (a saber, *amina aromática terciaria*), (1) ambos colorantes poseen dos grupos sulfato en las mismas posiciones del mismo fenilo (Fig. 6), y (2) para una diversidad de estructuras químicas con toxicóforos mutagénicos (p. ej., azo-aromáticos; amino-trifenil-metanos), según los resultados experimentales de varios compuestos de esas clases químicas (p. ej., azo-aromáticos; amino-trifenil-metanos): *el grupo sulfato (unido covalentemente a la respectiva molécula) ha cancelado la mutagenicidad y carcinogenicidad del toxicóforo en cuestión [147-149].*

De hecho, si se considera la elevada *solubilidad acuosa* conferida a Patent Blue VF y Patent Blue V por sus dos grupos sulfato (p. ej., 30 g/L de solubilidad acuosa, en el caso de Patent Blue VF), se puede predecir que: la carencia del grupo hidroxilo en Patent Blue VF (CASRN® 129-17-9) tendría un impacto insignificante sobre su farmacocinética, comparado con la farmacocinética Patent Blue V (CASRN® 3536-49-0). Por otra parte, los resultados de la *abamectina* (CASRN® 71751-41-2) en las pruebas de genotoxicidad y en el RCB, se extrapolaron aquí a la *avermectina B1a* (CASRN® 65195-55-3) y a la *avermectina B1b* (CASRN® 65195-56-4) (Tabla A10). Lo anterior se basó en la siguiente argumentación. Con respecto de sus moléculas farmacológicamente activas, la *abamectina* está compuesta en 80% (o más) por *avermectina B1a*, y en un 20% (o menos) por *avermectina B1b* [152]. Tanto en el RCB como en las respectivas pruebas de genotoxicidad, las dosis de *abamectina* fueron lo suficientemente altas como para que se manifestara la posible genotoxicidad y carcinogenicidad de la *avermectina B1a* (la cual representa el 80% del contenido farmacológico de la *abamectina*), en caso que la misma (la *avermectina B1a*) fuese genotóxica o carcinogénica [153].

Así, la carencia de genotoxicidad y la ausencia de carcinogénesis en el RCB de la *abamectina* (Tabla A10), permiten concluir que la *avermectina B1a* también carece de genotoxicidad y carcinogenicidad en las respectivas pruebas preclínicas (Tabla A10). Más aún. Como la diferencia estructural entre la *avermectina B1a* y la *avermectina B1b* no corresponde con toxicóforos conocidos (Fig. 7), y por la naturaleza química de dicha diferencia estructural (a saber: la única diferencia entre la *avermectina B1b* y la *avermectina B1a*, es que la primera carece de un grupo metilo), se puede concluir entonces que la *avermectina B1b* también carece de genotoxicidad y carcinogenicidad en las respectivas pruebas toxicológicas (Tabla A10). Esta conclusión concordó

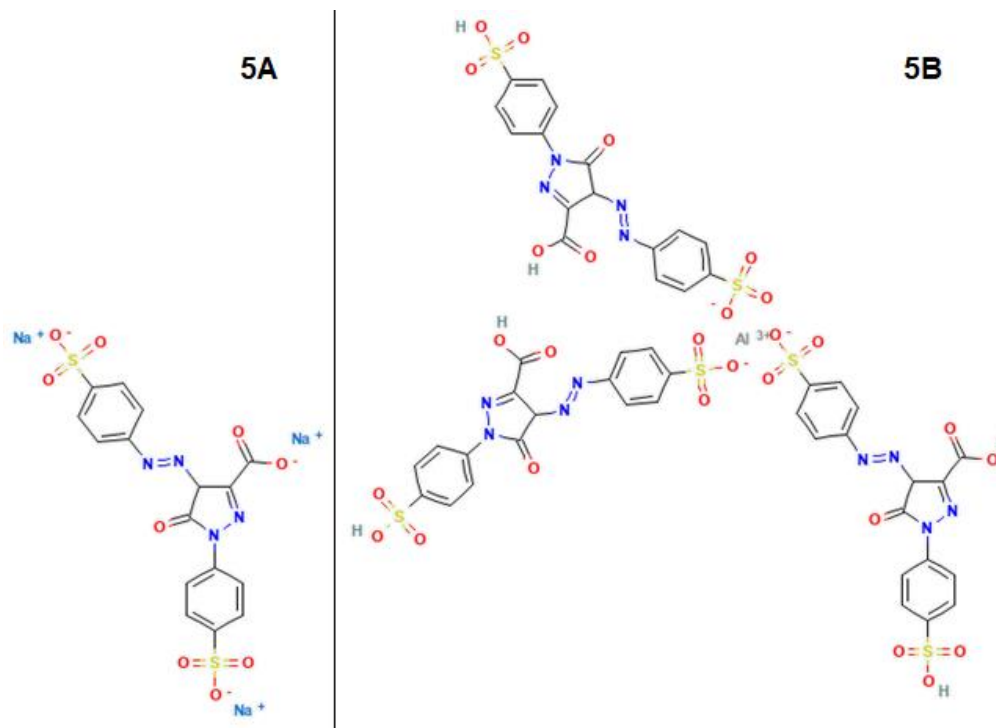


Figura 5. Estructura bidimensional de la *tartrazina* (**Fig. 5A**, CASRN 1934-21-0), y de la *laca de aluminio de la tartrazina* (**Fig. 5B**, CASRN 12225-21-7), las cuales difieren sólo en los cationes sodio o aluminio [150,151].

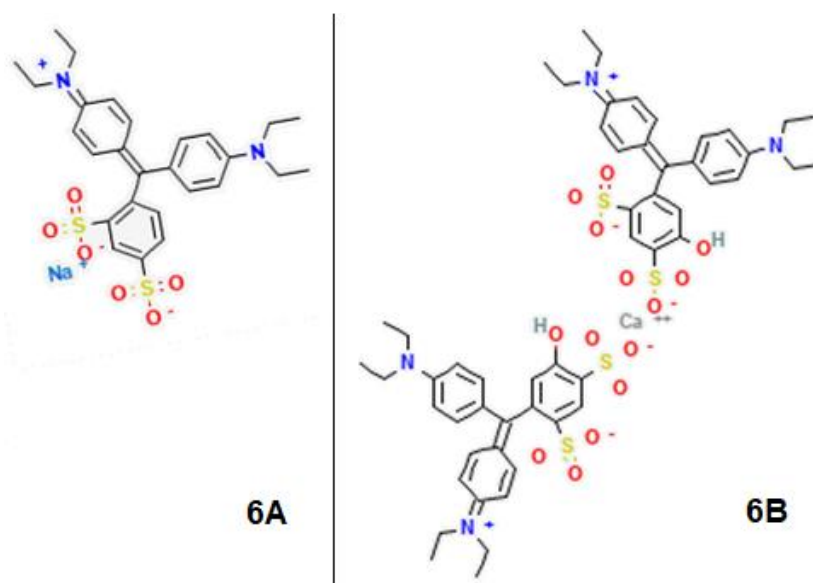


Figura 6. Estructura bidimensional de los colorantes Patent Blue VF (**Fig. 6A**, CASRN 129-17-9) y Patent Blue V (**Fig. 6B**, CASRN 3536-49-0), los cuales difieren sólo en los cationes sodio o calcio, y en la presencia o ausencia de un grupo hidroxilo en el fenilo que posee los dos grupos sulfatos [150,151]

con el concepto de la *Asamblea Conjunta entre la ONUAA y la OMS sobre Residuos de Pesticidas (en Alimentos de Origen Vegetal)* [FAO/WHO JMPR], quien enunció: “*Debido a las muy similares propiedades farmacológicas de la avermectina B1a y avermectina B1b, estas pueden considerarse como toxicológicamente equivalentes*” [153]. De acuerdo con los argumentos expuestos arriba para el caso de la *abamectina, avermectina B1a*, y

avermectina B1b, los resultados de la *emamectina* (CASRN® 119791-41-2) en las pruebas de genotoxicidad y en el RCB, se extrapolaron aquí a la *emamectina B1a* (PubChem CID 11549937) y a la *emamectina B1b* (PubChem CID 15279960) (Tabla A10). De hecho, las diferencias estructurales que hay entre la *emamectina B1a* y la *emamectina B1b*, son las mismas diferencias que hay entre la *avermectina B1a* y la *avermectina B1b* (a saber, la ausencia o presencia de un grupo metilo) (Fig. 7, y Fig. 8). En ese sentido, los argumentos expuestos arriba para extrapolar a la *avermectina B1a* y *avermectina B1b* los resultados toxicológicos de la *abamectina*, también aplican para extrapolar a la *emamectina B1a* y *emamectina B1b* los desenlaces toxicológicos de la *emamectina* (CASRN® 119791-41-2). A saber, en términos de *entidades moleculares* farmacológicamente activas, la *emamectina* está compuesta en un 90% (o más) por *emamectina B1a*, y en un 10% (o menos) por *emamectina B1b* [154]. De acuerdo con los argumentos mencionados arriba para el caso de la *abamectina*, *avermectina B1a*, y *avermectina B1b*, los resultados de la *eprinomectina* (CASRN® 123997-26-2) en las pruebas de genotoxicidad y en el RCB, se extrapolaron aquí a la *eprinomectina B1a* (CASRN® 133305-88-1) y a la *eprinomectina B1b* (CASRN® 133305-89-2) (Tabla A10).

Concretamente, las diferencias estructurales que hay entre la *avermectina B1a* y la *avermectina B1b*, son las mismas diferencias que hay entre la *eprinomectina B1a* y *eprinomectina B1b* (Fig. 7, y Fig. 9). Acerca de las moléculas farmacológicamente activas presentes en dicha mezcla, la *eprinomectina* está compuesta en un 90% (o más) por *eprinomectina B1a*, y en un 10% (o menos) por *eprinomectina B1b* [155]. Ahora bien, a diferencia de la *abamectina* y la *emamectina*, la *eprinomectina* no ha sido ensayada en el RCB (Tabla A10). Sin embargo, esta tesis extrapoló a la *eprinomectina* (CASRN® 123997-26-2) el resultado negativo de la *emamectina* (CASRN® 119791-41-2) en el RCB (Tabla A10), con base en el siguiente argumento. La *emamectina B1a* y la *eprinomectina B1a* (componentes responsables de casi toda la acción farmacológica de la *emamectina* y *eprinomectina*, respectivamente) difieren sólo en los grupos señalados por los círculos de la Figura 10. A saber, en la *eprinomectina B1a*, el grupo *amina secundaria* de la *emamectina B1a* es sustituido por un grupo *amida* (Fig. 10).

En tal sentido, podría preocupar que la *emamectina B1a* y la *eprinomectina B1a*, poseen los toxicóforos mutagénicos conocidos como *amina aromática mono-alquil*, y *amina aromática N-acil*, respectivamente (Fig. 10). El conocimiento muestra que los compuestos que tienen dichos toxicóforos (p. ej., *amina aromática N-acil*), **(1)** pueden ser biotransformados por los mamíferos en las correspondientes *aminas aromáticas* mutagénicas [148,156], y que **(2)** han resultado carcinogénicos en humanos y/o en roedores de laboratorio (p. ej., *fenacetina*; CASRN® 62-44-2) [148,156]. Sin embargo, la ausencia de genotoxicidad y carcinogenicidad de la *emamectina* en las respectivas pruebas preclínicas (Tabla A10) [154], indica lo siguiente: **(1)** que el grupo *amina secundaria* de la *emamectina* no es biotransformado en *amina primaria*, o **(2)** si la *amina secundaria* de la *emamectina* es biotransformada en *amina primaria*, esta no es activada (mediante biotransformación) en la especie electrofílica y mutagénica correspondiente (a saber, el ion *nitrenio*).

Basado en lo discutido en los dos párrafos anteriores, se puede asumir entonces que: incluso si es biotransformada en la respectiva *amina aromática*, la *amida aromática* de la *eprinomectina* no daría lugar al *aductor covalente del ADN* conocido como *ion nitrenio*. Esta conclusión está respaldada por la carencia de genotoxicidad, observada para la *eprinomectina* en las pruebas de toxicología genética [157]. Al respecto, se puede hipotetizar que los grupos **(1)** *amina aromática secundaria* de la *emamectina*, y **(2)** *amida aromática* de la *eprinomectina*, no serían biotransformados en el mutagénico *ion nitrenio*, por obstrucciones sobre la actividad enzimática necesaria para tal biotransformación, relacionadas con el tamaño y la complejidad estructural de las

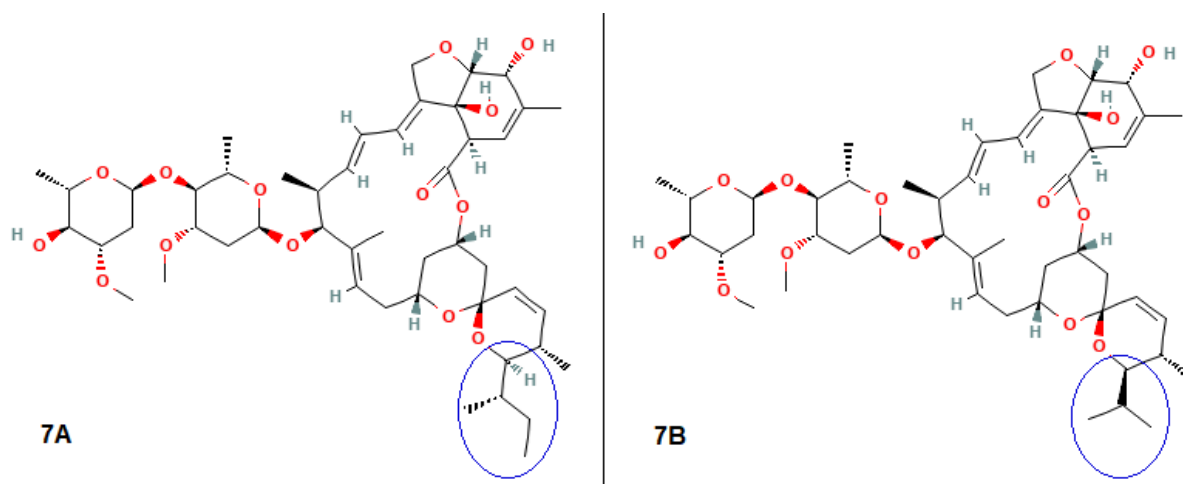


Figura 7. Estructura bidimensional de la avermectina B1a (**Fig. 7A**, CASRN 65195-55-3) y de la avermectina B1b (**Fig. 7B**, CASRN 65195-56-4). Los círculos azules resaltan las diferencias estructurales entre ambas [150,151].

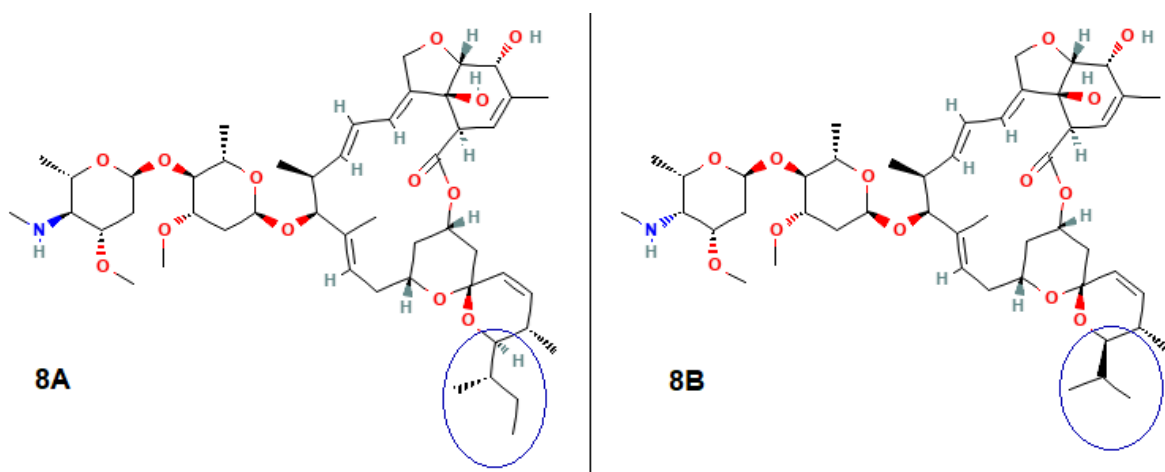


Figura 8. Estructura bidimensional de la emamectina B1a (**Fig. 8A**, PubChem CID 11549937) y de la emamectina B1b (**Fig. 8B**, PubChem CID 15279960). Los círculos azules resaltan las diferencias entre ambas [150].

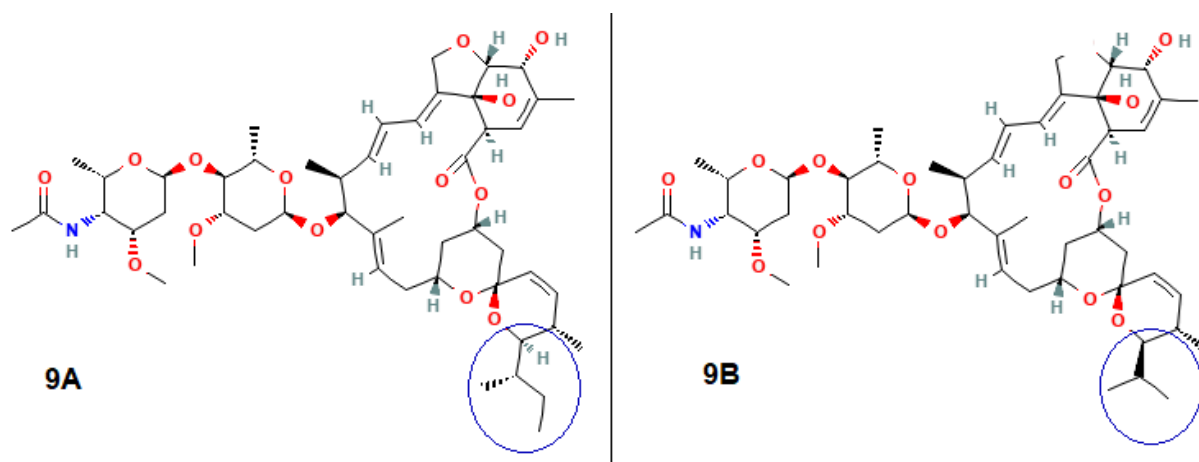


Figura 9. Estructura bidimensional de la eprinomectina B1a (**Fig. 9A**, CASRN 133305-88-1) y de la eprinomectina B1b (**Fig. 9B**, CASRN 133305-89-2). Los círculos azules señalan las diferencias entre ellas [150,151].

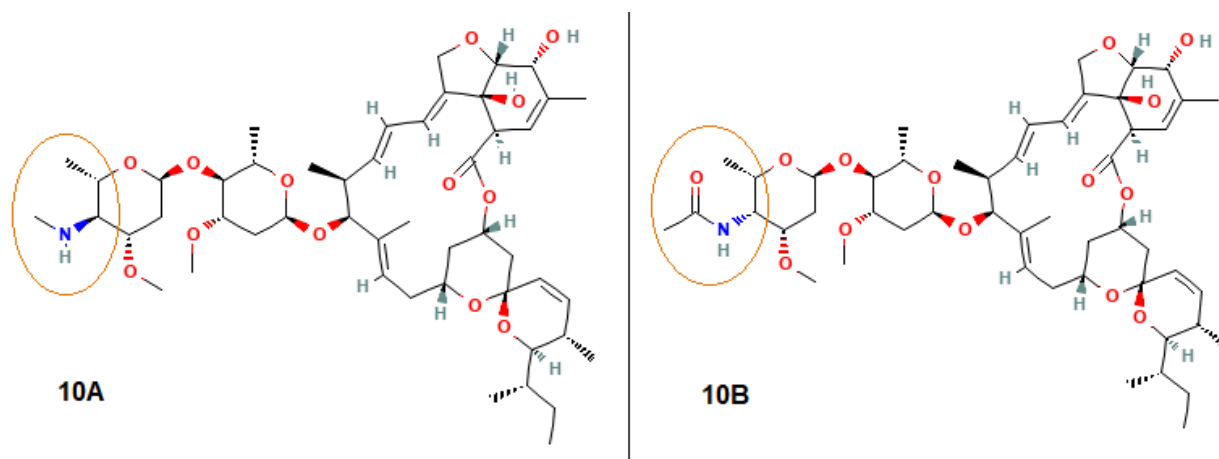


Figura 10. Estructura bidimensional de la emamectina B1a (**Fig. 10A**, PubChem CID 11549937) y de la eprinomectina B1a (**Fig. 10B**, CASRN 133305-88-1). Los círculos anaranjados señalan sus diferencias [150,151].

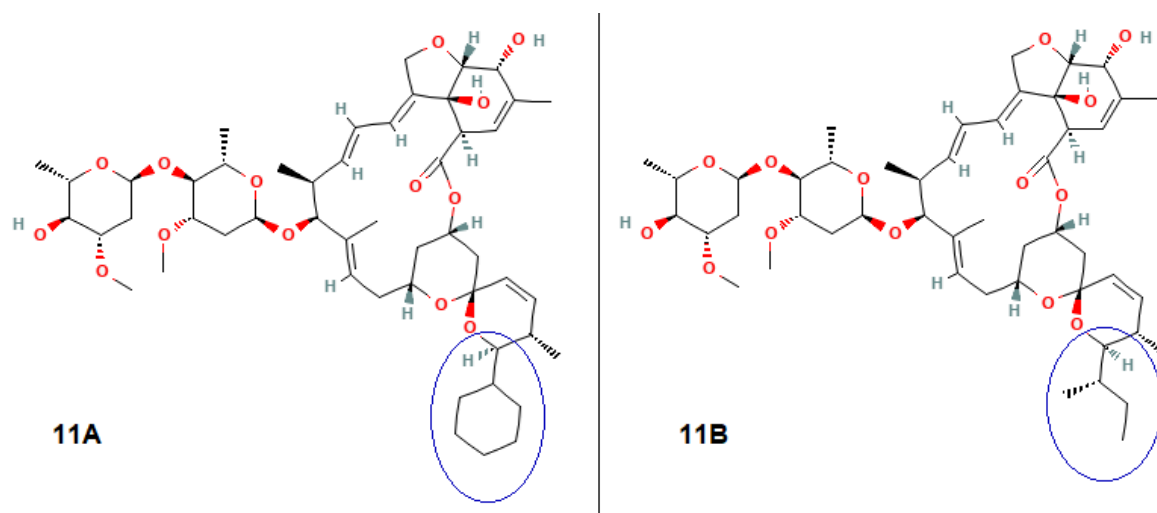


Figura 11. Estructura bidimensional de la doramectina (**Fig. 11A**, CASRN 117704-25-3) y de la avermectina B1a (**Fig. 11B**, CASRN 65195-55-3). Los círculos azules señalan las diferencias entre ambas [150,151].

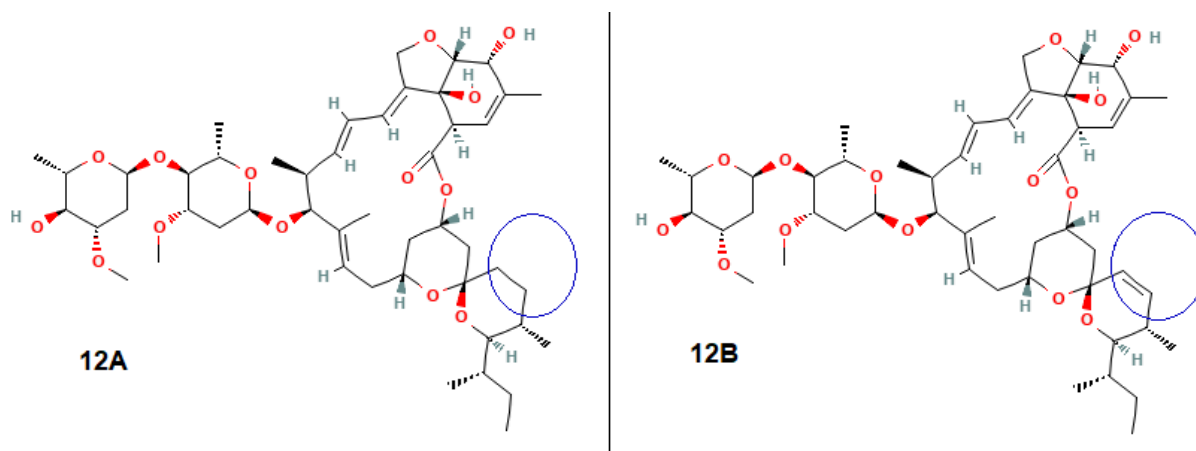


Figura 12. Estructura bidimensional de la ivermectina B1a (**Fig. 12A**, CASRN 71827-03-7) y de la avermectina B1a (**Fig. 12B**, CASRN 65195-55-3). Los círculos azules resaltan las diferencias entre ambas [150,151].

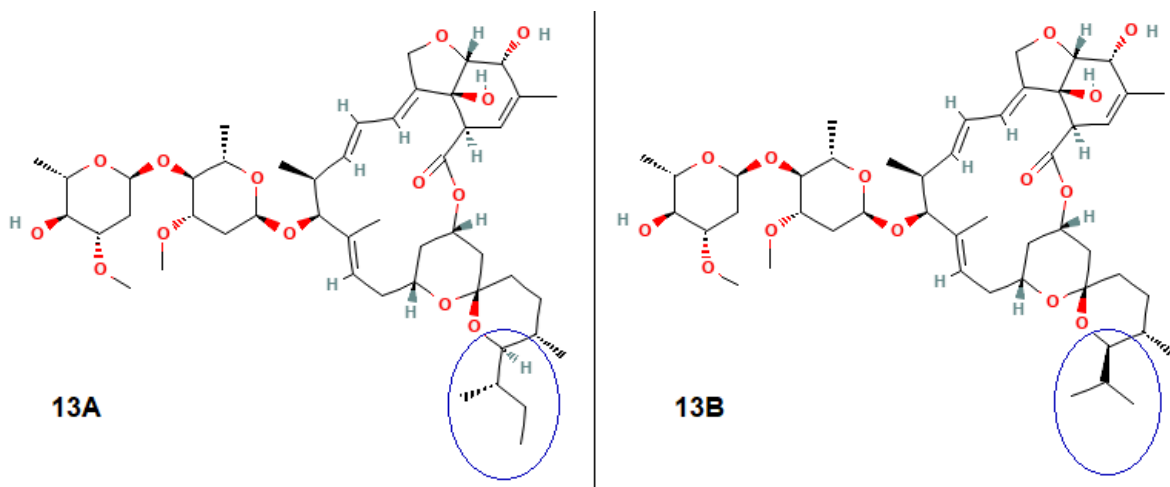


Figura 13. Estructura bidimensional de la ivermectina B1a (**Fig. 13A**, CASRN 71827-03-7) y de la ivermectina B1b (**Fig. 13B**, CASRN 70209-81-3). Los círculos azules resaltan las diferencias entre ambas [150,151].

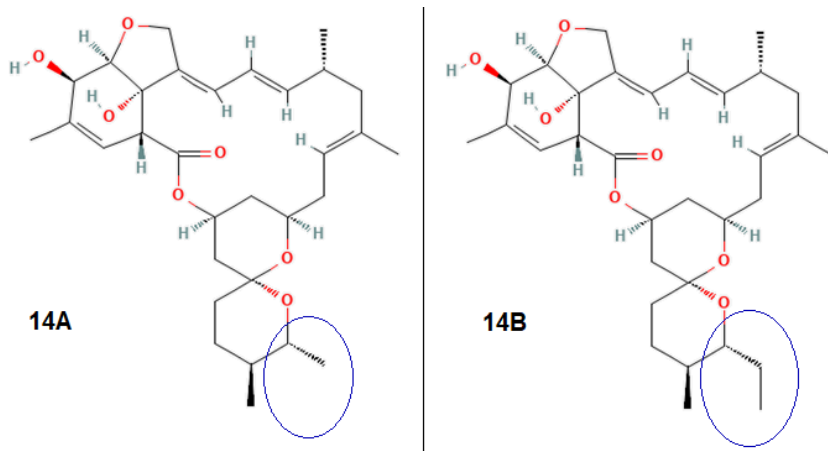


Figura 14. Estructura bidimensional de la milbemicina A3 (**Fig. 14A**, CASRN 51596-10-2) y de la milbemicina A4 (**Fig. 14B**, CASRN 51596-11-3). Los círculos azules resaltan las diferencias entre ambas [150,151].

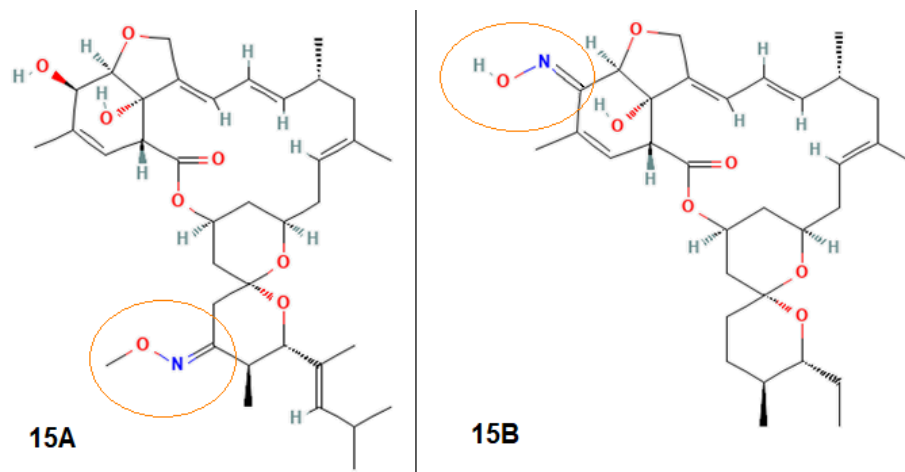


Figura 15. Estructura bidimensional de la moxidectina (**Fig. 15A**, CASRN 113507-06-5) y de la milbemicina A4 5-oxima (**Fig. 15B**, PubChem CID 91617829). Los círculos anaranjados resaltan los grupos oxima [150,151].

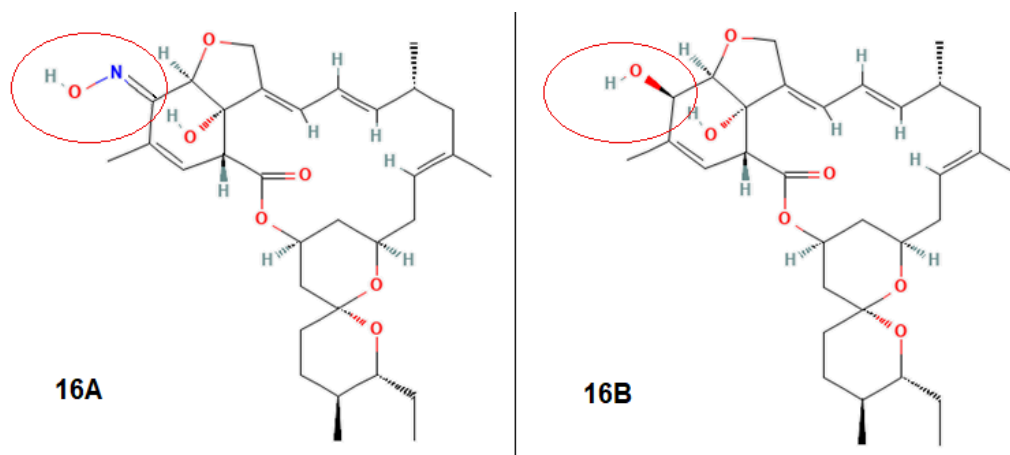


Figura 16. Estructura bidimensional de la milbemicina A4 5-oxima (**Fig. 16A**, PubChem CID 91617829) y de la milbemicina A4 (**Fig. 16B**, CASRN 51596-11-3). Los círculos rojos señalan sus diferencias [150,151].

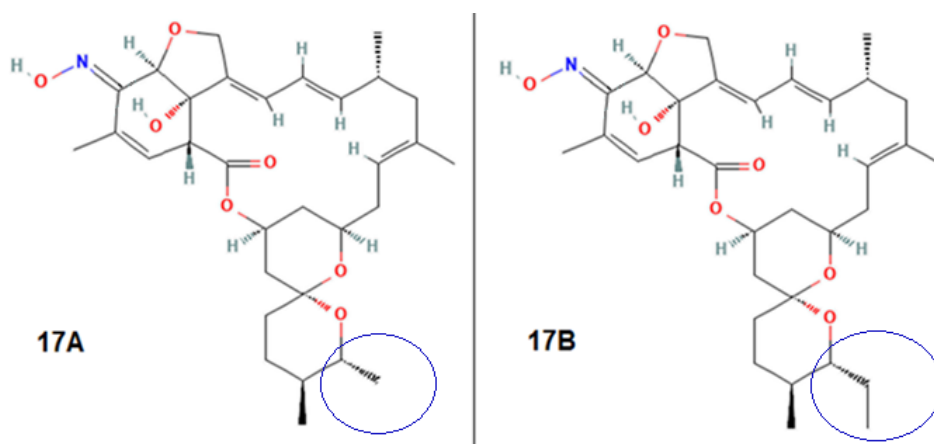


Figura 17. Estructura bidimensional de la milbemicina A3 5-oxima (**Fig. 17A**, PubChem CID 91617476) y de la milbemicina A4 5-oxima (**Fig. 17B**, CASRN 51596-11-3). Los círculos indican sus diferencias [150,151].

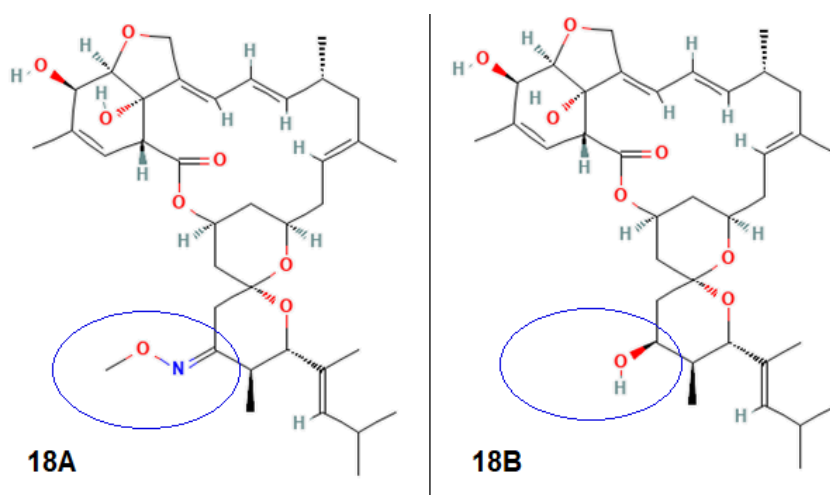


Figura 18. Estructura bidimensional de la moxidectina (**Fig. 18A**, CASRN 113507-06-5) y de la nemadectina (**Fig. 18B**, PubChem CID 6436124). Los círculos azules señalan sus diferencias estructurales [150,151].

lactonas macrocíclicas. El concepto de esta tesis, de extrapolar a la *eprinomectina* los resultados de la *emamectina* en el RCB, concordó con la opinión científica del *Comité Conjunto entre la ONUAA y la OMS Experto en Aditivos Alimentarios* (FAO/WHO JECFA), el cual basó su evaluación sobre la posible ~carcinogenicidad para los humanos por ingestión~ de la *eprinomectina*, en los resultados de la *emamectina* en el RCB [157]. Basado en el siguiente razonamiento, la ausencia de carcinogénesis en el RCB de la *abamectina* (CASRN® 71751-41-2), fue un resultado que se extrapoló aquí a la *doramectina* (la cual no ha sido ensayada en el RCB; *Tabla A10*). Primero. Comparado con la *avermectina B1a* (la cual representa el 80% de la actividad farmacológica de la mezcla conocida como *abamectina*), la *doramectina* (CASRN® 117704-25-3) difiere sólo en la presencia de un grupo *ciclohexilo*, en reemplazo del grupo *butanilo* de la *avermectina B1a* (*Fig. 11*). De acuerdo con el conocimiento que se tiene sobre la *relación estructura-actividad (SAR) carcinogénica*, la diferencia estructural entre la *doramectina* y *avermectina B1a*, es una diferencia inerte en materia de carcinogenicidad [158,159].

Esta conclusión encuentra respaldo en la carencia de mutagenicidad y genotoxicidad, observada para la *doramectina* en las respectivas pruebas de toxicología genética (*Tabla A10*) [158,159]. El procedimiento de esta tesis, de extrapolar a la *doramectina* los resultados de la *abamectina* en el RCB (*Tabla A10*), compaginó así con el concepto de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), la cual decidió evaluar la posible ~carcinogenicidad para los humanos por ingestión~ de la *doramectina*, con base en los resultados de la *abamectina* en el RCB [158]. Por otra parte, y en términos de moléculas farmacológicamente activas, la mixtura conocida como *ivermectina* (CASRN® 70288-86-7) está compuesta por **(1)** *ivermectina B1a* (CASRN® 71827-03-7), en un 80% (o más), y por **(2)** *ivermectina B1b* (CASRN® 70209-81-3), en un 20% (o menos) [160,161]. En tal sentido, la *ivermectina* (CASRN® 70288-86-7) resultó negativa a mutagenicidad y genotoxicidad en distintas pruebas de toxicología genética [160,161]. Por su parte, la *ivermectina B1a* difiere de la *avermectina B1a*, sólo en que la *ivermectina B1a* carece de una insaturación que está presente en la *avermectina B1a* (*Fig. 12*).

Así, las diferencias estructurales que hay entre la *ivermectina B1a* y la *avermectina B1a* son aún más leves que las existentes entre la *avermectina B1a* y *avermectina B1b* (*Fig. 11* y *Fig. 12*). Como ya se justificaron arriba las extrapolaciones toxicológicas entre la *avermectina B1a* y la *avermectina B1b*, y como las diferencias estructurales que hay entre la *ivermectina B1a* y la *avermectina B1a* son aún más leves (y toxicológicamente insignificantes) de las que hay entre la *avermectina B1a* y la *avermectina B1b*, esta tesis extrapoló entonces a la *ivermectina* (CASRN® 70288-86-7) los resultados de la *abamectina* (CASRN® 71751-41-2) en el RCB. En correspondencia con el concepto de la FAO/WHO JMPR sobre la equivalencia toxicológica entre la *avermectina B1a* y la *avermectina B1b* (el cual se basó en la irrelevancia toxicológica de las diferencias estructurales entre ellas) [153], y, considerando que la *ivermectina B1a* y la *ivermectina B1b* presentan entre sí las mismas diferencias estructurales que hay entre la *avermectina B1a* y *avermectina B1b* (*Fig. 7*, y *Fig. 13*), esta tesis decidió extrapolar tanto a la *ivermectina B1a* como a la *ivermectina B1b*, los resultados de la *abamectina* en el RCB (*Tabla A10*).

Por otro lado, y en términos de las moléculas responsables de su acción pesticida, la mixtura conocida como *milbemectina* está compuesta por **(1)** *milbemicina A4* (CASRN® 51596-11-3), en un 70% (o más), y por **(2)** *milbemicina A3* (CASRN® 51596-10-2), en 30% (o menos) [162]. La única diferencia estructural que hay entre la *milbemicina A3* y la *milbemicina A4*, es que la primera carece de un grupo metilo que está presente en la *milbemicina A4* (*Fig. 14*). Según el conocimiento que se tiene acerca de la *relación estructura-actividad (SAR) carcinogénica*, el grupo metilo es inerte en términos de mutagenicidad, genotoxicidad, y carcinogenicidad. Por ende, aplicando la argumentación presentada arriba para extrapolar a la *avermectina B1a* y *avermectina B1b* los

resultados de la *abamectina* en el RCB, esta tesis extrapoló a la *milbemicina A3* y *milbemicina A4* los resultados de la *milbemectina* en el RCB (Tabla A10). Por otra parte, los resultados negativos de la *moxidectina* (CASRN® 113507-06-5) en las respectivas pruebas preclínicas nos muestra que, en el caso de las lactonas macrocíclicas, el grupo funcional *oxima* es inerte en términos de genotoxicidad y carcinogenicidad (Tabla A10). Al respecto, el grupo *oxima* de la *moxidectina* se muestra en círculos en la Figura 15. Permítanos entonces considerar la siguiente secuencia. Primero. En términos de moléculas farmacológicamente activas, la mezcla conocida como *milbemicina oxima* (CASRN® 129496-10-2) está compuesta por **(1)** *milbemicina A4 5-oxima* (PubChem CID 91617829), en un 80% (o más), y por **(2)** *milbemicina A3 5-oxima* (PubChem CID 91617476), en un 20% (o menos) [163]. Segundo. La *milbemicina A4* (CASRN® 51596-11-3) y la *milbemicina A4 5-oxima* (PubChem CID 91617829) difieren sólo en el grupo *oxima* resaltado en la Figura 16.

Tercero. Los grupos *oxima* de las lactonas macrocíclicas carecen de genotoxicidad y carcinogenicidad, tal como se argumentó previamente con el ejemplo de la *moxidectina* (CASRN® 113507-06-5) (Tabla A10). Cuarto. Esta tesis ya justificó arriba la extrapolación a la *milbemicina A4* (CASRN® 51596-11-3) de los resultados de la *milbemectina* en el RCB (Tabla A10). Quinto. La *~milbemicina A3 5-oxima~* y la *~milbemicina A4 5-oxima~* difieren sólo en un grupo metilo que sí está presente en la *milbemicina A4 5-oxima* (Fig. 17). Sexto. Se sabe que los grupos metilo son inertes en términos de genotoxicidad y carcinogenicidad. De acuerdo con lo anterior, esta tesis extrapoló **(1)** a la *milbemicina oxima* (CASRN® 129496-10-2); **(2)** a la *milbemicina A4 5-oxima* (PubChem CID 91617829), y **(3)** a la *milbemicina A3 5-oxima* (PubChem CID 91617476), los resultados en el RCB de la *milbemectina* (Tabla A10). A saber, la *milbemectina* es la mezcla compuesta en un 70% (o más) por *milbemicina A4* (CASRN® 51596-11-3), y en un 30% (o menos) por *milbemicina A3* (CASRN® 51596-10-2) [162].

Por otra parte, la *nemadectina* (PubChem CID 6436124) discrepa de la *moxidectina* (CASRN® 113507-06-5), sólo en la sustitución del grupo *oxima* de la *moxidectina* por el grupo *hidroxilo* de la *nemadectina* (Fig. 18). A juzgar por otras *lactonas macrocíclicas* con grupos *hidroxilo* que carecieron de genotoxicidad y carcinogenicidad en las respectivas pruebas preclínicas, tales como la *abamectina* y la *emamectina* (Tabla A10), el grupo *hidroxilo* en las lactonas macrocíclicas (tales como la *nemadectina*) se puede considerar inerte en materia de genotoxicidad y carcinogenicidad. Además, la carencia de genotoxicidad y carcinogenicidad experimentalmente observada para la *moxidectina* (Tabla A10), no es atribuible a su grupo *oxima*, ya que otras lactonas macrocíclicas sin grupos *oxima* (tales como la *abamectina*, *emamectina*, y *milbemectina*) también resultaron negativas en el RCB y en las pruebas de genotoxicidad (Tabla A10). Por consiguiente, esta tesis consideró justificado extrapolar a la *nemadectina* los resultados de la *moxidectina* en el RCB (Tabla A10). En términos de moléculas farmacológicamente activas, la mezcla conocida como *spinosad* (CASRN® 168316-95-8) está compuesta en 76.5% por *espinosina A* (CASRN® 131929-60-7), y en 13.5% por *espinosina D* (CASRN® 131929-63-0) [164].

Tanto en el RCB como en las pruebas de genotoxicidad, las dosis de *spinosad* fueron lo suficientemente altas como para que se manifestara la posible genotoxicidad y carcinogenicidad de la *espinosina A*, en caso que esta (la *espinosina A*) en efecto fuese genotóxica y carcinogénica [153]. En tal sentido, el propio *spinosad* resultó negativo a genotoxicidad y carcinogenicidad en las respectivas pruebas preclínicas (Tabla A10). Por su parte, la *espinosina D* discrepa de la *espinosina A* sólo por la presencia un grupo metilo, del que la *espinosina A* carece (Fig. 19). Como se explicó anteriormente, los grupos metilo se consideran inertes en términos de genotoxicidad y carcinogenicidad. Con base en lo anterior, esta tesis extrapoló a la *espinosina A* y a la *espinosina D*, los resultados del *spinosad* en el RCB y en las pruebas de genotoxicidad (Tabla A10). Por otra parte, el *tianfenicol glicinato*

(t.c.c. *tianfenicol aminoacetato*, CASRN® 2393-92-2) y el *tianfenicol* (CASRN® 15318-45-3), discrepan sólo en que el primero presenta un grupo *aminoacetato* (o grupo *glicina*) enlazado mediante un enlace éter (Fig. 20). Por la susceptibilidad de los enlaces éter a ser escindidos en el tracto gastrointestinal humano, el *tianfenicol glicinato* sería metabolizado en *tianfenicol*+ *glicina*. Por su parte, la *glicina* es un aminoácido fisiológicamente ubicuo en los organismos mamíferos. Por lo tanto, es razonable asumir que la *glicina* carece de genotoxicidad y carcinogenicidad. Basado en lo anterior, esta tesis encontró suficiente justificación para extrapolar al *tianfenicol glicinato*, los resultados del *tianfenicol* en el RCB y en las pruebas de genotoxicidad (Tabla A10). De acuerdo con la siguiente argumentación, esta tesis extrapoló a la *beta-ciflutrina* (CASRN® 86560-94-3) los resultados de la *ciflutrina* (CASRN® 68359-37-5) en las pruebas de genotoxicidad y en el RCB (Tabla A10).

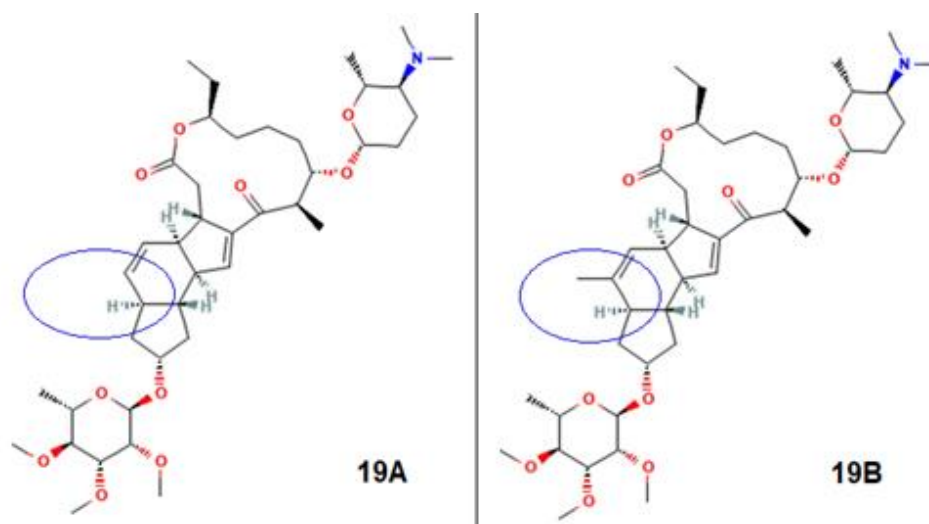


Figura 19. Estructura bidimensional de la espinosina A (Fig. 19A, CASRN 131929-60-7) y de la espinosina D (Fig. 19B, CASRN 131929-63-0). Los círculos azules señalan sus diferencias estructurales [150,151].

Primero. La *ciflutrina* está compuesta en un 40% por *beta-ciflutrina* [165]. Segundo. Tanto en las pruebas de genotoxicidad como en el RCB, las dosis de *ciflutrina* fueron lo suficientemente altas como para que se manifestara la posible genotoxicidad y carcinogenicidad de la *beta-ciflutrina*, en caso que esta (la *beta-ciflutrina*) fuese genotóxica y carcinogénica [165]. El procedimiento de esta tesis, de extrapolar a la *beta-ciflutrina* los resultados de la *ciflutrina* en las pruebas de genotoxicidad y en el RCB, concordó con la opinión científica de la FAO/WHO JMPR, la cual basó su evaluación sobre la posible ~carcinogenicidad para los humanos por ingestión~ de la *beta-ciflutrina*, en los resultados de la *ciflutrina* [165]. Basado en el siguiente razonamiento, esta tesis extrapoló a la *lambda-cihalotrina* (CASRN® 91465-08-6) los resultados de la *cihalotrina* (CASRN® 68085-85-8) en el RCB (Tabla A10). Primero, la *cihalotrina* está compuesta en un 50% por *lambda-cihalotrina* [166].

Segundo, las dosis de *cihalotrina* en el RCB fueron lo suficientemente altas como para que se manifestara la posible carcinogenicidad de la *lambda-cihalotrina*, en caso que esta (la *lambda-cihalotrina*) en efecto fuera carcinogénica [166]. El concepto de esta tesis de extrapolar a la *lambda-cihalotrina* los resultados de la *cihalotrina* en el RCB, coincidió con la opinión científica de la FAO/WHO JMPR, la cual evaluó la posible carcinogenicidad para los humanos por ingestión de la *lambda-cihalotrina*, con base en los resultados de la *cihalotrina* en el RCB [166]. Discutiremos ahora otros aspectos metodológicos relacionados con los pronósticos de ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ de las sustancias del objetivo específico #4 (Tabla 18).

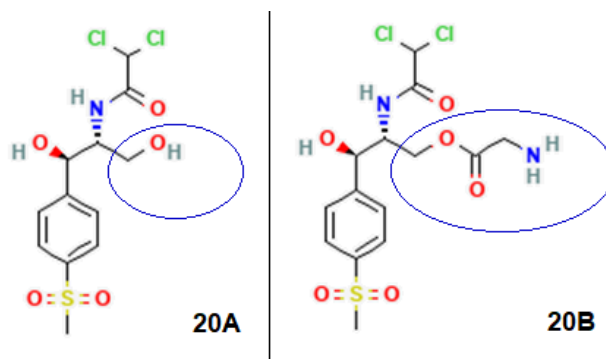


Figura 20. Estructura bidimensional del tianfenicol (**Fig. 20A**, CASRN 15318-45-3) y del tianfenicol glicinato (**Fig. 20B**, CASRN 2393-92-2). Los círculos azules resaltan las diferencias entre ambos [150,151].

Por vía oral, la *cipermetrina* (CASRN® 52315-07-8) incrementó la incidencia de tumores pulmonares en un (#1) estudio del tipo RCB-ratón [167]. No obstante, esta tesis reconoció a la *cipermetrina* como negativa a carcinogénesis química por la vía oral del RCB-ratón (Tabla A10), con base en la siguiente argumentación. Primero. La *cipermetrina* está compuesta en un 25% por *alfa-cipermetrina* (CASRN® 67375-30-8) [167]. Segundo. Según las pruebas de *toxicidad sub-crónica* en perros, la potencia neurotóxica de la *alfa-cipermetrina* es 3 veces mayor que la potencia neurotóxica de la *cipermetrina* [167]. Tercero. De los 8 isómeros que componen a la *cipermetrina*, la *alfa-cipermetrina* contiene los isómeros (1) con la mayor potencia insecticida, y (2) con la mayor neurotoxicidad en ratas [167]. Considerando el contenido de *alfa-cipermetrina* en la *cipermetrina*, las dosis de *alfa-cipermetrina* empleadas en el ~RCB-ratón de la *alfa-cipermetrina*~ permiten concluir que: « en el ~RCB-ratón de la *alfa-cipermetrina*~, los roedores estuvieron expuestos dosis de *alfa-cipermetrina* similares a las dosis de *alfa-cipermetrina* que recibieron los roedores en el ~RCB-ratón de la *cipermetrina*~ [167].

Sin embargo, en el ~RCB-ratón de la *alfa-cipermetrina*~, no se observaron aumentos (estadísticamente significativos) en la incidencia de tumores como consecuencia del tratamiento de los ratones con la *alfa-cipermetrina* (tal como sí se observó en uno de los RCBs-ratón de la *cipermetrina*) [167]. Es decir, con los isómeros de la *cipermetrina* de mayor potencia pesticida y neurotóxica para los mamíferos (a saber, los isómeros contenidos en la *alfa-cipermetrina*), no se replicó la tumorigénesis pulmonar observada en el ~RCB-ratón de la *cipermetrina*~ [167]. Por ende, el incremento en la incidencia de tumores pulmonares (comparado con el grupo *control negativo concurrente*) observado en el ~RCB-ratón de la *cipermetrina*~, se consideró aquí como desvinculado del tratamiento de los ratones con la *cipermetrina* (Tabla A10). Esta conclusión coincidió con el concepto de la FAO/WHO JMPR, quien reconoció a la *cipermetrina* como carente de carcinogenicidad en el RCB-ratón, con base en la siguiente argumentación: que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre (1) la incidencia de tumores pulmonares en cualquiera de los grupos de ratones tratados con la *cipermetrina*, y (2) la incidencia de tumores pulmonares en el grupo de ratones *control negativo histórico* [167].

En el ~RCB-ratón de la *alfa-cipermetrina*~, se observó un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de la lesión pre-neoplásica conocida como *displasia glandular del estómago* [167]. No obstante, dicho hallazgo se consideró aquí como independiente (o desvinculado) del tratamiento de los ratones con la *alfa-cipermetrina*, teniendo en cuenta que no se observaron cambios (estadísticamente significativos) en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas del estómago en el ~RCB-ratón de la *cipermetrina*~ [167]. Por el contenido de *alfa-*

cipermetrina (CASRN® 67375-30-8) que hay en la *cipermetrina* (CASRN® 52315-07-8), en el ~RCB-ratón de la *cipermetrina*~, los ratones recibieron dosis de *alfa-cipermetrina* equivalentes a las que se emplearon en el propio ~RCB-ratón de la *alfa-cipermetrina*~ [167]. Sin embargo, en el ~RCB-ratón de la *cipermetrina*~, no se replicó el aumento en la incidencia de *displasia glandular del estómago* observada en el ~RCB-ratón de la *alfa-cipermetrina*~ [167]. Por lo tanto, el incremento en la incidencia de *displasia glandular del estómago*, se consideró aquí como desvinculado del tratamiento de los ratones con la *alfa-cipermetrina* (Tabla A10).

Así, esta tesis reconoció a la *alfa-cipermetrina* como negativa al incremento en la incidencia lesiones pre-neoplásicas por la vía oral del RCB-ratón (Tabla A10). Finalmente, el ensayo de la *tetraciclina* (CASRN® 60-54-8) por la vía oral del RCB-rata, concurrió con un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de la lesión pre-neoplásica conocida como *foco de alteración basofílica hepatocelular* (Tabla A10). Sin embargo, otras tetraciclinas con estructuras muy semejantes a la *tetraciclina* (CASRN® 60-54-8), tales como la *clortetraciclina* (CASRN® 57-62-5) y la *oxitetraciclina* (CASRN® 79-57-2), no incrementaron la incidencia de lesiones pre-neoplásicas por la vía oral del RCB-rata (Tabla A10). Ergo, el aumento en la incidencia de la lesión *foco de alteración hepatocelular*, observado en el RCB-rata de la *tetraciclina*, se consideró aquí como independiente (o desvinculado) de la exposición de las ratas a la *tetraciclina*. Por consiguiente, esta tesis reconoció a la *tetraciclina* (CASRN® 60-54-8) como positiva al criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB* (Tabla A10).

13.6.2. Potencial relevancia de los pronósticos de ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos~ de esta tesis

En *toxicología y farmacología reguladora*, lo canónico ha sido juzgar la posible ~carcinogenicidad innata para los humanos~ de las sustancias por medio de (1) una batería de pruebas de genotoxicidad, y (2) mediante el RCB [160-169]. Cuando las sustancias han resultado negativas tanto en las pruebas de genotoxicidad como en el RCB, es frecuente encontrar comentarios como los siguientes por parte de las agencias reguladoras. Por ejemplo, (1) “La *asamblea* concluyó que es **improbable** (es decir, **muy poco probable**) que la *lambda-cihalotrina* (CASRN® 91465-08-6) imponga algún riesgo carcinogénico para los humanos” [166], o (2) “La *asamblea* concluyó que es **improbable** (es decir, **muy poco probable**) que la *deltametrina* (CASRN® 52918-63-5) sea un peligro de cáncer para los humanos” [169]. Comparado con el *statu quo* en farmacología y toxicología reguladora, esta tesis da el paso de revelar numéricamente cuán poco probable es para los humanos la ~posible carcinogenicidad innata por ingestión~ de los fármacos, pesticidas, y colorantes del **objetivo específico #4**.

Para las sustancias del **objetivo específico #4**, en condiciones de exposición oral lo suficientemente riesgosas, esta tesis estimó que hay 3.8% de probabilidad de que las mismas representen un *peligro* de cáncer para los humanos (Tabla 18). A pesar de la pertinencia de la metodología aplicada por esta tesis, y pese a la relevancia de los resultados de la misma (Tabla 18), se puede discutir lo siguiente. La potencial relevancia epidemiológica de las probabilidades numéricas de ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~, estimadas por esta tesis para las sustancias del **objetivo específico #4**, dependió críticamente de la predictividad del criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB* (secciones 13.3 y 13.4). La *previa bayesiana* que permitió optimizar de 73% a 96%, nuestra estimación de la probabilidad de ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ de las sustancias del **objetivo específico #4**, precisamente se basó en el criterio

Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB. Al respecto, la *previa bayesiana* basada en el criterio *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB*, se estimó aquí como: « la proporción de *no-carcinógenos de humanos* dentro de un conjunto de sustancias que no incrementaron la incidencia de lesiones pre-neoplásicas en el RCB, específicamente, un conjunto compuesto por cantidades iguales de **(1) carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico**, y **(2) no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico** ». En ese sentido, esta tesis reconoció cierto nivel de incertidumbre acerca de lo siguiente. Uno. En contraste con lo presentado en la [Tabla 13](#): «¿Cuál es el verdadero porcentaje de ~no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~ que concurren con una Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB?» Dos. A diferencia de lo que muestra la [Tabla 14](#): «¿Cuál es el verdadero porcentaje de ~carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~ que concurren con una Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB?»

Lo anterior es de importante consideración porque, en la medida que **(1)** muchos más ~no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~ concurren con la *Ausencia de Lesiones Pre-Neoplásicas en el RCB*, y **(2)** muchos menos ~carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico~ coincidan con la *Ausencia de Lesiones Pre-Neoplásicas en el RCB*, mucho más eficiente será este criterio en afinar la insuficiente predictividad de los resultados negativos entregados por la vía oral del RCB para las sustancias no-genotóxicas. Sin recurrir al Pronóstico Bayesiano (es decir, sólo con base en el desempeño predictivo del RCB; vía *probabilidad de verosimilitud negativa*), esta tesis no pudo estimar más que: 73% de probabilidad de que las sustancias (no-genotóxicas) del [objetivo específico #4](#) carezcan de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión ([Tabla 18](#)). Al respecto, 73% es una probabilidad que sería catalogada como *insuficientemente predictiva*. De ahí la importancia de **(1)** estimar correctamente la respectiva *previa bayesiana*, y **(2)** de recurrir al Pronóstico Bayesiano ([Tabla 18](#)). Sin embargo, según el presente autor, hay cierto grado de incertidumbre sobre: « la verdadera capacidad de los RCBs en los que se ensayaron las sustancias del [objetivo específico #4](#), de detectar los aumentos en la ~incidencia de lesiones pre-neoplásicas~ posiblemente causados por esas sustancias ».

La literatura sugiere que: una examinación exhaustiva y sistemática, en busca de posibles aumentos en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas, sí hace parte del RCB (p. ej., porque la incidencia de dichas lesiones se ha reportado en la gran mayoría de los estudios publicados de tipo RCB). No obstante, múltiples estudios del tipo RCB han sido reportados **(1)** sin especificar el catálogo de lesiones pre-neoplásicas que el laboratorio estaba en capacidad de identificar; **(2)** sin aclarar que la ~evaluación de la incidencia de lesiones pre-neoplásicas~ sí hacía parte esencial de los objetivos del estudio; **(3)** sin comunicar cambio alguno en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas específicas, y **(4)** sin comunicar que: no se observaron cambios en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas. Por ejemplo, en una de las guías más completas y modernas para la conducción del RCB, elaborada por los expertos de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), no se especifica que el registro de las lesiones pre-neoplásicas sea uno de los objetivos del RCB [\[9,72\]](#).

En ese sentido, se sabe que las guías OCDE recogen el *estado del arte* de cada prueba de toxicidad. En las guías OCDE, la ausencia de la ~evaluación de la incidencia de lesiones pre-neoplásicas~ como uno de los objetivos del RCB, sugiere que múltiples RCBs pudieron ser conducidos sin disponer de suficientes recursos para detectar incrementos en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas, atribuibles al tratamiento de los roedores con la *sustancia de prueba*. En contraste con lo anterior, la más reciente guía de la OCDE para la conducción de los RCBs, nos recuerda que el registro de las *lesiones no-neoplásicas* es uno de los objetivos del RCB [\[9,72\]](#). Cuando las lesiones histopatológicas encontradas en los RCBs se clasifican en **(1) lesiones neoplásicas**, o **(2) lesiones**

no-neoplásicas, se sabe que las *lesiones no-neoplásicas* deberían incluir a las *lesiones pre-neoplásicas* [13]. Por tanto, se piensa que todo RCB debiera disponer suficientes recursos para registrar cualquier aumento en la incidencia de lesiones pre-neoplásicas específicas. Ya que la *toxicología translacional* se mueve dentro de los límites impuestos por la incertidumbre (p. ej., la incertidumbre asociada con la extrapolación entre especies), y porque hay una necesidad de salud pública por pronósticos más precisos acerca de la posible ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ de las sustancias del **objetivo específico #4**, se puede plantear entonces que: la *previa bayesiana* empleada por esta tesis, basada en la *Ausencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB*, fue tanto válida como razonablemente predictiva.

Los *valores predictivos negativos (VPNs) bayesianos*, estimados por esta tesis para los resultados de las sustancias del **objetivo específico #4** en el RCB (*Tabla 18; Tabla A10*), brindan precisión numérica y una mayor confiabilidad a las decisiones gubernamentales que, desde una base cualitativa, ya clasificaron a distintas sustancias del **objetivo específico #4** como **(1) probablemente no-carcinogénicas para los humanos por vía oral**, o como **(2) carentes de preocupación de carcinogenicidad para los humanos por ingestión** [61,67,78]. Después de mostrar funcionalidad en optimizar la insuficiente predictividad de los resultados (de ausencia de carcinogénesis química) entregados por el RCB para las sustancias (no-genotóxicas) del **objetivo específico #4** (p. ej., en la *Tabla 18*, comparar las PVNs con los VPN Bayesianos), y gracias a su excelente habilidad para distinguir entre los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* y los *no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (*Tablas 13 y 14*), los resultados de esta tesis sugieren que: la evaluación de la ~incidencia de las lesiones pre-neoplásicas~ debería ser uno de los principales objetivos del RCB.

En las guías para la estandarización y armonización del RCB, entonces, es recomendable especificar a la *examinación y registro de las lesiones pre-neoplásicas* como uno de los principales objetivos de todo RCB. En esta tesis, la ~Ausencia de Incrementos en la Incidencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~ fue un criterio que mejoró significativamente la predictividad de los resultados negativos entregados por la vía oral del RCB para las sustancias no-genotóxicas (p. ej., en la *Tabla 18*, comparar las PVNs con los VPN Bayesianos). Lo anterior levanta la siguiente hipótesis: «que el ~Aumento en la Incidencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~ ayudaría a identificar ciertos *carcinógenos de humanos (de tipo mutagénico o no-mutagénico)* que, mediante la vía oral del RCB, generalmente resultan en falsos-negativos». Si las investigaciones confirmasen lo anterior, el criterio ~Aumento en la Incidencia de Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~ podría mejorar la sensibilidad (SEN) del RCB por los *carcinógenos de humanos de baja potencia carcinogénica*.

14. Conclusiones y Recomendaciones

14.1. Conclusiones

1. En esta tesis, se encontró una marcada diferencia (p. ej., >20%) entre **(1)** la sensibilidad (SEN) de la vía oral del RCB-rata, y **(2)** la SEN de la vía inhalatoria del RCB-rata, ambas SENs con respecto de los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*. También se encontró aquí una notable diferencia (p. ej., >20%) entre **(1)** la SEN del RCB hacia los *carcinógenos de humanos francamente genotóxicos*, y **(2)** la SEN del RCB hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-genotóxico*. Por consiguiente, se concluye que: « un mismo bioensayo preclínico de tipo *in vivo*, puede ofrecer entonces una sensibilidad (SEN) o especificidad (SPEC) distinta, dependiendo de **(1)** la vía de exposición de los animales a las *sustancias de prueba*, y **(2)** dependiendo del *modo (o mecanismo) de acción* de las *sustancias de prueba*; en particular, dependiendo de aquellos *mecanismos (o modos) de acción* que tengan una franca influencia sobre el atributo que la prueba preclínica busca pronosticar (p. ej., una habilidad farmacológica; una propiedad toxicológica).
2. En términos de *sensibilidad* (SEN) hacia los *carcinógenos de humanos francamente genotóxicos*, no se observaron aquí diferencias significativas entre el RCB-rata, el RCB-ratón, y el RCB de 2-especies (config. #2; Fig. 4). Hacia los *carcinógenos de humanos francamente genotóxicos*, teóricamente, tampoco se anticipan diferencias de *especificidad* (SPEC) entre el RCB-rata, el RCB-ratón, y los RCBs de 2-especies. Por lo tanto, si se tienen que someter sustancias francamente genotóxicas al RCB, con cualquiera de los RCBs de 1-especie (p. ej., el RCB-rata; el RCB-ratón) es suficiente en el plano de la ~identificación de los peligros químicos de cáncer para los humanos~. Lo anterior no cancela la necesidad de que se investigue cual es la *configuración de especies del RCB* que ofrece el mejor desempeño en la ~estimación o gestión del riesgo de carcinogénesis química humana~.
3. Basado en las sustancias que se ensayaron en ambas especies roedoras del RCB por vía oral, se observaron aquí las siguientes SENs hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*: **(1)** comparado con el RCB-rata, el RCB-ratón sólo viró un sólo (# 1) falso-negativo a verdadero-positivo (1/14 = 7%), a la vez que **(2)** el RCB-ratón y el RCB de 2-especies (config. #2; Fig. 4) presentaron la misma SEN. Por ende, concluimos lo siguiente: « si se desea evaluar mediante el RCB, la posible ~carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ de una sustancia no-genotóxica, es suficiente con cualquiera de los RCBs de 1-especie por vía oral (p. ej., el RCB-rata por vía oral; el RCB-ratón por ingestión) ».
4. Hacia los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* **(1)** la vía oral del RCB-rata presentó una SEN de 65%, mientras que **(2)** la vía inhalatoria del mismo RCB-rata presentó 89% de SEN. Además, 3 sustancias no-genotóxicas que son ~connaturalmente carcinogénicas para los humanos tanto por ingestión como por inhalación~, resultaron en **(1)** falsos-negativos por la vía oral del RCB-rata, y **(2)** en verdaderos-positivos por la vía inhalatoria del mismo RCB-rata. Como mínimo, 4 sustancias específicas con ~alto potencial para ser connaturalmente carcinogénicas para los humanos (p. ej. de acuerdo con su toxicología mecanicista)~ resultaron **(1)** negativas a carcinogénesis química por la vía oral del RCB, y **(2)** positivas a carcinogénesis química por la vía inhalatoria del RCB-rata. Considerando lo anterior, concluimos lo siguiente: **(a)** el sistema

respiratorio es más vulnerable a la carcinogénesis química que el sistema digestivo, o, por vía respiratoria los mamíferos son más susceptible a la carcinogénesis química comparado con la vía digestiva (para discernir cuál de las dos anteriores es cierta, o si ambas conclusiones son correctas, se requiere de más investigación al respecto; **(b)** la ~ausencia de carcinogénesis química~ observada por la vía oral del RCB no es automáticamente extrapolable a la vía inhalatoria del RCB. En otras palabras, si una sustancia resulta negativa a carcinogénesis química mediante la vía oral del RCB, no se debe asumir que dicha sustancia es negativa a carcinogénesis mediante la vía inhalatoria del RCB.

5. Hacia los *carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico*, el ~RCB de 2-especies por vía inhalatoria (config. #2; Fig. 4)~ presentó 13% más de SEN comparado con los RCBs de 1-especie por vía inhalatoria (p. ej., el RCB-rata por vía inhalatoria; el RCB-ratón por vía inhalatoria). Hacia los *carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico*, se desconoce si el RCB de 2-especies empeora la especificidad (SPEC) del método por debajo de un nivel que no logre ser compensado por el ligero 13% de ganancia en SEN. Acerca de la posible ~carcinogenicidad innata para los humanos por inhalación~ de una sustancia no-genotóxica, la evidencia contribuida por esta tesis **(1)** es insuficiente como para indicar idoneidad o necesidad de emplear el RCB de 2-especies por vía inhalatoria, y, sin embargo, **(2)** la evidencia de esta tesis puede justificar el uso del RCB de 2-especies por vía inhalatoria, si así lo dispone un instituto de investigación, una agencia reguladora, una industria, o una universidad, en ejercicio de su autonomía.
6. Hacia los ~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~, la vía oral del RCB-rata presentó un insuficiente 65% de *sensibilidad* (SEN). Esa deficiente SEN, bloquea la predictividad de los resultados negativos entregados por la vía oral del RCB para las sustancias no-genotóxicas. Lo anterior se evidenció con el 73% de probabilidad de que sean verdaderos-negativos, los resultados entregados por la vía oral del RCB para las sustancias de *objetivo específico #4*. Dicho 73%, es una probabilidad que **(1)** a simple vista, resulta insuficientemente predictiva, y **(2)** que está basada sólo en el desempeño predictivo de la vía oral del RCB hacia los ~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~.
7. Hacia los ~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~, la vía oral del RCB presentó **(1)** una excelente *tasa de falsos-positivos*, por debajo del 5%, y **(2)** una sobresaliente SPEC, por encima del 95%. No obstante, la evaluación de dicha SPEC sólo se basó en un conjunto de sustancias caracterizadas por **(1)** contar con un escaso potencial para ser carcinogénicas en el RCB; **(2)** disponer de un alto chance de resultar negativas en el RCB, y **(3)** de ser propensas a subir la (evaluación de la) SPEC del RCB. Por consiguiente, la SPEC (hacia los ~carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico~) evaluada aquí para la vía oral del RCB: **(1)** representa un primer acercamiento investigativo a la SPEC del RCB, y **(2)** no puede ser todavía planteada como la SPEC final de la vía oral del RCB.
8. Para estimar la probabilidad numérica de ~carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ de sustancias específicas, la SPEC evaluada aquí para la vía oral del RCB, sólo aplica para aquellas sustancias que tienen evidencia de que operan mediante *modos (o mecanismos) de acción carcinogénica* que **(1)** operan en humanos, y **(2)** que son relevantes para la salud humana (p. ej., mutagénesis, inflamación crónica, acción farmacológica sobre receptores celulares compartidos entre roedores y humanos; Tabla 7). Cuando **(1)** se desconoce el *mecanismo (o modo) de acción* mediante el cual una sustancia causa carcinogénesis en el

RCB, o **(2)** cuando se desconoce si dicho *modo (o mecanismo) de acción* opera en humanos, resulta mucho más pertinente aplicar una SPEC del RCB basada en ~no-carcinógenos de humanos con notable potencial para ser carcinogénicos en el RCB~. Sin embargo, dicha SPEC se desconoce en la actualidad.

9. Las *dosis máximas toleradas* (MTDs) son necesarias para que la sensibilidad del RCB (hacia los *carcinógenos de humanos*) se mantenga en niveles predictivos.
10. La especificidad (SPEC) del RCB sí depende de la dosis. Dosis excesivas o francamente exageradas, incrementan el chance de que el RCB entregue *falsos-positivos*; en particular, aquellas dosis que incumplan con **(1)** los principios de las MTDs, o **(2)** con las *dosis límite* recomendadas por esta tesis ([sección 14.2](#)).
11. A pesar de su corrección matemática, y del fundamento de los bioensayos en los que se basan, las ~aproximaciones probabilísticas para la traducción clínica de los hallazgos preclínicos~ contribuidas por esta tesis, no son más que: « *pronósticos sujetos a distintos márgenes de error* (márgenes de error que, a su vez, derivan de las notables limitaciones de los bioensayos actuales en términos de sensibilidad, especificidad, repetibilidad, y/o reproducibilidad ». Sin embargo, mediante éxitos (p. ej., la prevención de la tragedia de la talidomida en los EUA) o desastres de salud pública (p. ej., la tragedia de la talidomida en el resto del mundo), la historia muestra que sí son necesarios los pronósticos preclínicos **(1)** basados en la mejor evidencia, y **(2)** elaborados por la mejor *ingeniería de la predicción* disponible.
12. Como mínimo (a saber, vía *probabilidad de verosimilitud positiva*), estimamos un 95% de probabilidad de que las 52 sustancias del [objetivo específico #3](#) sean *connaturalmente carcinogénicas para los humanos* **(1)** por las vías de exposición (o tratamiento) especificadas en la [Tabla 17](#), y **(2)** en condiciones de exposición (o tratamiento) lo suficientemente riesgosas (o intensas), como para que se manifieste (en neoplasia) la carcinogenicidad innata para los humanos de estas sustancias. Es tan alta la probabilidad numérica de ~carcinogenicidad innata para los humanos~ que esta tesis encontró para las sustancias del [objetivo específico #3](#), que resultaría razonable (o prudente) asumir (p. ej., regular) dichas sustancias como *peligros conocidos de cáncer humano*.
13. Entre las sustancias del [objetivo específico #3](#), hay 10 fármacos autorizados (en diversos países) para uso no-antineoplásico en humanos ([Tabla 19](#); [Tabla 20](#)). Para dichos fármacos, esta tesis también estimó un 95% de probabilidad de que sean *connaturalmente carcinogénicos para los humanos* (por las vías de exposición especificadas en la [Tabla 17](#)). Estos 10 fármacos varían mucho en términos de **(1)** la gravedad (o levedad) de las dolencias para la que están sanitariamente autorizados, y **(2)** de la disponibilidad en cada país de otras alternativas terapéuticas autorizadas. Como resultado, para algunos fármacos del [objetivo específico #3](#), los riesgos de *neoplasia iatrogénica* podrían superar con creces a los beneficios terapéuticos.
14. Vía Pronóstico Bayesiano, esta tesis encontró un 96% de probabilidad de que las 68 sustancias del [objetivo específico #4](#): ~carezcan de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ ([Tabla 18](#)). En múltiples países del mundo, las sustancias del [objetivo específico #4](#) ya se encuentran gubernativamente aprobadas como **(1)** *colorantes de alimentos, medicamentos, y cosméticos*; **(2)** *fármacos de la medicina humana o veterinaria*, o **(3)** como *principios activos de productos pesticidas*. En materia de prevención de la carcinogénesis química y neoplasia iatrogénica, los resultados de esta tesis apoyan las evaluaciones

gubernativas que, desde una interpretación cualitativa de los resultados del RCB, identificaron a las sustancias del [objetivo específico #4](#) como *probablemente carentes de carcinogenicidad para los humanos*.

15. Teniendo en cuenta la Conclusión #4 de esta tesis, el 96% de probabilidad de ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ estimado por esta tesis para las sustancias del [objetivo específico #4](#), no es extrapolable a la vía inhalatoria. En otras palabras, la metodología y resultados de esta tesis no permiten asumir que haya 96% de probabilidad de que las sustancias del [objetivo específico #4](#) ~carecen de carcinogenicidad innata para los humanos por inhalación~.

16. En calidad de *previa bayesiana* (a saber, vía Pronóstico Bayesiano), el criterio ~Ausencia de (Incrementos Estadísticamente Significativos en la Incidencia de) Lesiones Pre-neoplásicas en el RCB~, se mostró eficaz en potenciar la deficiente predictividad de los resultados negativos entregados por la vía oral RCB para las sustancias no-genotóxicas (p. ej., en la [Tabla 18](#), comparar las PVNs con los VPN Bayesianos).

14.2. Recomendaciones

1. Recomendamos realizar los análisis que permitan saber si, desde el *desempeño predictivo* de las actuales pruebas de genotoxicidad, se puede predecir acertadamente o no la ~carcinogenicidad innata para los humanos~ de las sustancias genotóxicas (es decir, de las sustancias positivas a la mejor batería de genotoxicidad disponible). Lo anterior, **(1)** sustentado en un *valor predictivo* (o *probabilidad de veracidad preclínica*) lo suficientemente alto como para ese propósito, y **(2)** mediante una validación basada en lo que en ciencia regulatoria se conoce como un *conjunto químico de entrenamiento* (o *chemical training set*). Si la respuesta a dicha interrogante investigativa es sí, entonces, se puede descontinuar al RCB como método para predecir la ~carcinogenicidad innata para los humanos~ de las sustancias genotóxicas.
2. Para evaluar el *desempeño predictivo* (p. ej., SEN; SPEC; ACCU) de un bioensayo preclínico de tipo *in vivo*, es recomendable clasificar primero a las sustancias en las que se basará la evaluación de dicho desempeño, según **(1)** las vías de exposición por las que dichas sustancias fueron estudiadas tanto en el bioensayo predictivo como en su estándar de referencia, y **(2)** según el *modo* (o *mecanismo*) de acción de las mismas.
3. Es recomendable investigar y desarrollar métodos alternativos que, hacia los *carcinógenos de humanos por ingestión de tipo no-mutagénico*, proporcionen una sensibilidad (SEN) mucho mejor que la ofrecida por la vía oral del RCB (a saber, \approx 65% de SEN; [Tabla 16](#)).
4. Recomendamos poner a prueba experimentalmente, y evaluar mediante toxicología teórica, cuál es la sensibilidad del RCB por los ~carcinógenos de humanos (de tipo mutagénico) con baja potencia genotóxica~.
5. Recomendamos que se continúe investigando sobre la *especificidad* (SPEC) del RCB. Por ejemplo, es recomendable evaluar cuál es la *tasa de falsos-positivos* entregada por el RCB para los ~no-carcinógenos de humanos con marcado potencial para ser carcinogénicas en el RCB~ (p. ej., fármacos, principios activos de pesticidas, drogas psicoactivas, y otras sustancias farmacológica o toxicológicamente activas).
6. Para reducir el chance de *falsos-positivos* por la vía oral del RCB, en el caso de las sustancias cuya escasa toxicidad impide identificar una *dosis máxima tolerada* (MTD), es recomendable acotar la dosis más alta de dichas sustancias a los siguientes límites: **(1)** 2%, en ~peso de la sustancia por peso de alimento~ (si la sustancia será mezclada con el alimento); **(2)** 2%, en ~peso de la sustancia por volumen del agua de beber~ (si la sustancia será incorporada en el agua de beber), o **(3)** 1 gramo de sustancia por cada kilogramo de peso del animal (si la sustancia se suministrará mediante *sonda orogástrica* o *alimentación forzada*).
7. Como la especificidad (SPEC) del RCB sí depende de la dosis, para minimizar el chance de que esta prueba entregue resultados *falsos-positivos*, recomendamos maximizar los esfuerzos técnicos que permitan conocer cuál será la dosis más baja de la *sustancia de prueba* que, en el RCB por emprender, cumplirá con la definición de *dosis máxima tolerada* (MTD).

8. Como la sensibilidad (SEN) del RCB también depende la dosis, para minimizar el chance de que este bioensayo entregue resultados del tipo *falso-negativo*, recomendamos incluir al menos una *dosis máxima tolerada* (MTD) en el esquema de dosis a ensayar. Lo anterior es especialmente importante en el caso de los fármacos investigativos (t.c.c. *investigational drugs*), debido a la creciente tendencia en *farmacología reguladora preclínica* de aceptar RCBs que no ensayaron MTDs.
9. Son recomendables las investigaciones orientadas a revelar más *puntos finales* (es decir, *variables a examinar*) que, en el RCB, sean indicativos de *mecanismos de acción carcinogénica* operativos en humanos. En el RCB, es necesario estandarizar (y armonizar) *puntos finales* que informen sobre el *mecanismo de acción* mediante el que una *sustancia de prueba* aumenta la incidencia de tumores en este bioensayo.
10. Si se desea predecir mediante el RCB, la posible ~carcinogenicidad innata para los humanos por inhalación~ de una sustancia no-genotóxica, la misma no debería ensayarse en el RCB por vía oral, sino por inhalación.
11. Sobre la base *sustancia-por-sustancia*, y con el mayor rigor científico, recomendamos demostrar experimental y racionalmente la existencia de cada uno de los ~carcinógenos específicos de roedores~ que han sido señalados como tales. Posteriormente, es recomendable evaluar hasta qué punto los ~carcinógenos específicos de roedores~ reducen la verdadera SPEC del RCB. Para ello, se debería considerar lo siguiente: « para incluir correctamente un ~carcinógeno específico de roedores~ en el cálculo de la SPEC, primero, debe haber suficiente evidencia de que el mismo carece de *carcinogenicidad innata para los humanos* por la respectiva vía de exposición (para la cual se está evaluando la SPEC del RCB). El que una sustancia resulte carcinogénica en el RCB mediante un mecanismo de acción inoperante en humanos, por sí solo, no prueba la ~carencia de carcinogenicidad innata para los humanos~ de la sustancia en cuestión (p. ej., el agente químico podría aumentar el riesgo de cáncer humano mediante otro mecanismo de acción) ».
12. En el RCB, la incidencia de los siguientes tumores fue incrementada (con significación estadística) por sustancias ~carentes de carcinogenicidad innata para los humanos por ingestión~ (Tabla A7). Por su asociación con resultados del tipo *falso-positivo* (Tabla A7), recomendamos desconsiderar el incremento en la incidencia de los siguientes tumores como resultados positivos (o de carcinogénesis química) en el RCB: **(1)** feocromocitomas de la glándula adrenal (t.c.c. suprarrenal); **(2)** insulinomas del páncreas, y **(3)** adenomas (y, por extensión, adenocarcinomas) de la glándula pituitaria (t.c.c. hipófisis).
13. Siempre que sea factible, es recomendable suplementar las evaluaciones de **(1)** farmacología translacional; **(2)** toxicología predictiva, o **(3)** de la toxicología y farmacología reguladora, con los *valores predictivos* (o *probabilidades de relevancia clínica*) de los resultados entregados para la *sustancia en evaluación*, por parte de las pruebas preclínicas consideradas en dicha evaluación. Al respecto, esta tesis es un ejemplo del potencial que tienen las aproximaciones probabilísticas (p. ej., los *valores predictivos*) para **(1)** traducir la pertinencia (o irrelevancia) epidemiológica de ciertos hallazgos preclínicos, y **(2)** de aumentar el impacto de los hallazgos preclínicos sobre las regulaciones, legislaciones, o sobre la práctica médico-farmacéutica.
14. La *previa bayesiana* (y, por ende, los *valores predictivos bayesianos*) son vulnerables a ser distorsionados por **(1)** limitaciones de conocimiento; **(2)** sesgos, o **(3)** por posible tergiversación por parte del Operador

- Bayesiano (es decir, de quien elabora los *valores predictivos bayesianos*). Matemáticamente, tanto la precisión (o imprecisión) como la relevancia (o insignificancia) de los *valores predictivos bayesianos*, depende críticamente de la corrección (y exactitud) de la *previa bayesiana*. Así, para contar con *valores predictivos bayesianos* precisos y relevantes, recomendamos **(1)** basar la *previa bayesiana* en argumentaciones refutables, y **(2)** comunicar todo el proceso de cálculo de los *valores predictivos bayesianos* mediante documentos auditables (incluyendo en ello la argumentación que sustenta la respectiva *previa bayesiana*).
15. Recordando que **(1)** *carcinogenicidad innata* no implica que cualquier exposición humana a las sustancias del **objetivo específico #3** (Tabla 17) incrementará el riesgo de neoplasia; **(2)** en términos de *discapacidad permanente, recortes a la expectativa de vida, o letalidad*, la gravedad de algunas enfermedades sí puede justificar los riesgos de neoplasia impuestos por el tratamiento médico con las sustancias de la Tabla 17, y **(3)** que otras medidas distintas a la *prohibición* (o *ilegalización*) pueden reducir el riesgo de carcinogénesis química a niveles técnica o biológicamente insignificantes (p. ej., medidas como el *tiempo de retiro*, en el caso de las drogas usadas en animales productores de alimentos), sugerimos que cada agencia gubernamental establezca las regulaciones que, desde su criterio, gestionen mejor (p. ej., mediante neutralización, minimización, o mitigación) los riesgos de neoplasia humana impuestos por las sustancias de la Tabla 17.
 16. Para las drogas (principios activos) del objetivo específico #3 (Tabla 19) que están autorizadas en el tratamiento de dolencias humanas distintas al cáncer, sugerimos que se caracterice (o estime) cuál es el aumento en el riesgo de neoplasia humana a casusa del tratamiento médico con dichos fármacos (p. ej., mediante farmacovigilancia prospectiva, o mediante farmacoepidemiología retrospectiva). Para dichos fármacos de la Tabla 19, también sugerimos que se revise cuál es **(1)** la *letalidad*, y **(2)** los cambios en la *esperanza de vida* impuestos por los tumores provocados por dichas drogas. Así, con más y mejores datos, podrá re-evaluarse si los beneficios terapéuticos de esos fármacos exceden sus riesgos de neoplasia.
 17. Ciertas drogas del objetivo específico #3 (Tabla 19) están aprobadas para el tratamiento de enfermedades humanas distintas al cáncer, que **(1)** actualmente, no cuentan con alguna otra opción farmacoterapéutica disponible, y **(2)** que tienen graves consecuencias en términos de *discapacidad permanente, recortes a la expectativa de vida, o letalidad*. Para tratar tales enfermedades (o condiciones médicas) humanas, sugerimos la autorización provisional de ~mutágenos con 95% (o más) de probabilidad de carcinogenicidad innata para los humanos~ (p. ej., como las drogas del **objetivo específico #3**). Ahora bien, lo anterior no cancela la necesidad de que se desarrollen nuevos fármacos que, conservando (o mejorando) la eficacia terapéutica de sus antecesores de la Tabla 19, **(1)** carezcan de *carcinogenicidad innata para los humanos*, o **(2)** por lo menos, que tengan una *potencia carcinogénica* mucho menor que la de sus predecesores de la Tabla 19.
 18. Para las drogas del **objetivo específico #3** aprobadas para el tratamiento de enfermedades humanas distintas al cáncer (Tabla 19), recomendamos lo siguiente: incluir o resaltar las **advertencias** sobre riesgo de neoplasia iatrogénica en las respectivas *informaciones de prescripción*. Lo anterior, con el fin de promover el mayor rigor, y la mayor certeza en el diagnóstico confirmatorio de tales enfermedades, antes de **(1)** prescribir; **(2)** dispensar (o suministrar), o **(3)** aplicar dichos fármacos. (p. ej., mediante inyección; infusión intravenosa). Para todos los fármacos del objetivo específico #3 (Tabla 19), recomendamos incluir lo siguiente en las respectivas *informaciones de prescripción*: un llamado al facultativo para que recomiende al paciente buscar vigilancia

médica a mediano y largo-plazo (p. ej., mediante tamizaje), que permita detectar oportunamente cualquier neoplasia potencialmente desencadenada por el tratamiento con dicho fármaco (del [objetivo específico #3](#)).

19. En las *informaciones de prescripción* de los fármacos del [objetivo específico #3](#), de uso no-antineoplásico para enfermedades que justifiquen los riesgos de neoplasia iatrogénica ([Tabla 19](#)), recomendamos incluir mensajes que motiven el uso facultativo de estas drogas sólo cuando: **(1)** en el mercado, no haya disponible otras opciones farmacoterapéuticas con aceptable eficacia sobre la enfermedad en cuestión, o **(2)** cuando la enfermedad del paciente haya resultado *refractaria, resurgente, o insuficientemente responsiva* a los otros fármacos disponibles para tratar dicha enfermedad (o condición médica).

20. Considerando **(1)** el 95% de probabilidad de *~carcinogenicidad innata para los humanos~* de los siguientes fármacos del [objetivo específico #3](#); **(2)** lo moderadas que son las dolencias para las que están sanitariamente autorizados dichos fármacos, al menos, comparado con el riesgo y las consecuencias de un cáncer iatrogénico, y **(3)** considerando la probable disponibilidad de otros fármacos no-carcinogénicos, con aceptable efectividad para tratar dichas dolencias no-neoplásicas, a las *agencias reguladoras de medicamentos* sugerimos lo siguiente: re-evaluar si el beneficio terapéutico de los siguientes fármacos realmente supera los riesgos de cáncer derivados de esta tesis, en el caso de (1) la **fenazopiridina** (CASRN® 94-78-0); (2) la **fenoxibenzamina** (CASRN® 59-96-1); (3) la **hidralazina** (CASRN® 86-54-4); (4) la **nitrofurantoina** (CASRN® 67-20-9), y (5) la **oxcarbazepina** (CASRN® 28721-07-5).

21. A la comunidad científica, recordamos que está pendiente por ser investigado: ¿Cuál es la *especificidad* de la vía inhalatoria del RCB hacia los *~carcinógenos de humanos por inhalación de tipo no-mutagénico~*?

22. En los protocolos, pautas, y guías para la estandarización y armonización internacional del RCB, recomendamos se incluya a la *~evaluación de la incidencia de las lesiones pre-neoplásicas~* como uno de los objetivos esenciales del RCB.

15. Publicaciones en revistas indexadas de la metodología, resultados, discusión, y conclusiones de esta tesis

La finalidad de esta sección es informar al lector sobre los artículos académicos, ya presentes en la literatura indexada en *Web of Science (Clarivate Analytics)* o *Scopus (Elsevier)*, mediante los que hemos contribuido a la comunidad farmacéutica la metodología, los resultados, la discusión, y las conclusiones de esta tesis de doctorado. Por sí solo, ninguno de estos artículos cubre esta tesis doctoral. En cambio, esta tesis sí entregó una visión concatenada de todos los artículos que hemos publicado durante la investigación doctoral correspondiente. Para algunos lectores de esta tesis, sin embargo, dichas publicaciones podrían ser de interés por distintas razones. Por ejemplo, para consultar el mérito y relevancia que expertos internacionales atribuyeron a la metodología, resultados, discusiones, y conclusiones de esta tesis. El segundo objetivo de esta sección es explicar la relación que, a juicio del presente autor, hay entre las mencionadas publicaciones y los [objetivos específicos](#) de esta tesis doctoral.

15.1. Artículos originales (t.c.c. artículos de investigación)

Suarez-Torres JD, Jimenez-Orozco FA, Ciangherotti CE. The 2-year rodent bioassay in drug and chemical carcinogenesis testing: Sensitivity, according to the framework of carcinogenic action. *Toxicology Mechanisms and Methods*. **2020a**;30(6):462-475. doi:[10.1080/15376516.2020.1760986](https://doi.org/10.1080/15376516.2020.1760986)

Suarez-Torres JD, Jimenez-Orozco FA, Ciangherotti CE. Drug excipients, food additives, and cosmetic ingredients probably not carcinogenic to humans reveal a functional specificity for the 2-year rodent bioassay. *Journal of Applied Toxicology*. **2020b**;40(8):1113-1130. doi:[10.1002/jat.3971](https://doi.org/10.1002/jat.3971)

Suarez-Torres JD, Ciangherotti CE, Jimenez-Orozco FA. The predictivity of the -alert performance- functionality of the OECD QSAR-Toolbox (c/w further issues on the predictivity of nonclinical testing). *Toxicology in Vitro*. **2020c**;66:104858. doi:[10.1016/j.tiv.2020.104858](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104858)

Suarez-Torres JD, Orozco CA, Ciangherotti CE. The numerical probability of carcinogenicity to humans of some pharmaceutical drugs: Alkylating agents, topoisomerase inhibitors or poisons, and DNA intercalators. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. **2021a**;35(6):1069-1089. doi:[10.1111/fcp.12674](https://doi.org/10.1111/fcp.12674)

Suarez-Torres JD, Orozco CA, Ciangherotti CE. The numerical probability of carcinogenicity to humans of some antimicrobials: Nitro-monoaromatics (including 5-nitrofurans and 5-nitroimidazoles), quinoxaline-1,4-dioxides (including carbadox), and chloramphenicol. *Toxicology in Vitro*. **2021b**;75:105172. doi:[10.1016/j.tiv.2021.105172](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105172)

Suarez-Torres JD, Ciangherotti CE, Orozco CA. Setting course for a translational pharmacology and a predictive toxicology based on the numerical probability of clinical relevance. *Environ Toxicol Pharmacol*. **2022** Sep 5:103968. doi: [10.1016/j.etap.2022.103968](https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103968). Epub ahead of print. PMID: 36075507.

Suarez-Torres y col. (2020a) reportaron la metodología, los resultados, y parte de la discusión concerniente al [objetivo específico #1](#) de esta tesis. Suarez-Torres y col. (2020b) comunicaron la metodología, los resultados, y parte de la discusión correspondiente al [objetivo específico #2](#). Suarez-Torres y col. (2020c) introdujeron parte de la

metodología que, posteriormente, fue optimizada y aplicada por Suarez-Torres y col. (2021a; 2021b) para cumplir con el **objetivo específico #3** de esta tesis. Suarez-Torres y col. (2021a; 2021b) reportaron parte de la metodología, parte de los resultados, y parte de la discusión relacionada con el **objetivo específico #3** de esta tesis doctoral. Por su parte, Suarez-Torres y col. (2022) sustentaron la matemática y estadística aplicada por esta tesis para cumplir con sus cuatro objetivos específicos. A propósito, el artículo de Suarez-Torres y col. (2022) desarrolló las demostraciones matemáticas de las principales ecuaciones aplicadas por esta tesis. Dichas demostraciones matemáticas no fueron incluidas en esta tesis para no alargar aún más la longitud de este manuscrito.

15.2. Artículos de revisión

Suarez-Torres JD, Orozco CA, Ciangherotti CE. The 2-year rodent bioassay in drug and chemical carcinogenicity testing: Performance, utility, and configuration for cancer hazard identification. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2021c;110:107070. doi:10.1016/j.vascn.2021.107070

Suarez-Torres JD, Ciangherotti CE, Jimenez-Orozco FA. Insights into toxicology, safety pharmacology, and drug dependence testing: The performance and predictive values of nonclinical tests. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 2020c;103:106684. doi:10.1016/j.vascn.2020.106684

Suarez-Torres y col. (2021c) revisaron los resultados correspondientes a los **objetivos específicos #1** y **#2** de esta tesis, entregando así una discusión sobre el desempeño predictivo, la utilidad, y el futuro del RCB en la política regulatoria. En una primera entrega, Suarez-Torres y col. (2020c) revisaron el marco conceptual para la metodología de esta tesis doctoral; un trabajo que luego fue profundizado y expandido por Suarez-Torres y col. (2022).

16. Referencias

1. IARC (International Agency for Research on Cancer). Preamble to the IARC Monographs (Amended January 2019) [internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer / World Health Organization; 2019 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://monographs.iarc.who.int/iarc-monographs-preamble-preamble-to-the-iarc-monographs/>
2. U.S. EPA (United States of America Environmental Protection Agency). Guidelines for Carcinogen Risk Assessment [internet]. Washington, D.C: United States Environmental Protection Agency; 2005 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.epa.gov/risk/guidelines-carcinogen-risk-assessment>
3. U.S. NTP (United States of America National Toxicology Program). 14th Report on Carcinogens Table of Contents: Introduction [internet]. Research Triangle Park: U.S. Department of Health and Human Services; 2016 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/assessments/cancer/roc/index.html>
4. Gordis L. Introduction (Chapter 1). In: Gordis L, editor. *Epidemiology*, 5th edition. Elsevier Saunders; 2014. p. 2-18.
5. Organización Mundial de la Salud (OMS). Las 10 principales causas de defunción [internet]. Ginebra: Organización de las Naciones Unidas; 2020 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
6. Klaunig JE. Chemical carcinogenesis (Chapter 4). In: Klaassen CD, editor. *Casarett & Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, 8th edition. McGraw-Hill Education medical; 2013. p. 393-443.
7. U.S. EPA (United States of America Environmental Protection Agency). 870.4200 – Carcinogenicity (August 1998) [internet]. Washington, D.C: United States of America Environmental Protection Agency; 1998 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPPT-2009-0156-0020>
8. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Redbook 2000: IV.C.6 Carcinogenicity Studies with Rodents [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition; 2006 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/redbook-2000-ivc6-carcinogenicity-studies-rodents>
9. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). Test No. 451: Carcinogenicity Studies [internet]. Paris (France): Organisation for Economic Co-operation and Development, 2018 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-451-carcinogenicity-studies_9789264071186-en
10. ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use). S1B(R1) EWG Rodent Carcinogenicity Studies for Human Pharmaceuticals – Endorsed Documents: S1(R1) Concept Paper [internet]. Geneva: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2012 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.ich.org/page/safety-guidelines>
11. Bogdanffy MS, Lesniak J, Mangipudy R, et al. Tg.rasH2 mouse model for assessing carcinogenic potential of pharmaceuticals: Industry survey of current practices. *Int J Toxicol*. 2020;39(3):198-206. doi:10.1177/1091581820919896

12. Faustman EM, Omenn GS. Risk assessment (Chapter 4). In: Klaassen CD, editor. *Casarett & Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, 8th edition. McGraw-Hill Education medical; 2013. p. 123-149.
13. U.S. NTP. Specifications for the conduct of studies to evaluate the toxic and carcinogenic potential of chemical, biological and physical agents in laboratory animals for the National Toxicology Program (NTP) [internet]. Research Triangle Park: U.S. National Institute of Environmental Health Sciences; 2011 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/test_info/finalntp_toxcarspecsjan2011.pdf
14. Goodman JI. Goodbye to the bioassay. *Toxicol Res (Camb)*. 2018;7(4):558-564. doi:10.1039/c8tx00004b
15. Doe JE, Boobis AR, Dellarco V, et al. Chemical carcinogenicity revisited 2: Current knowledge of carcinogenesis shows that categorization as a carcinogen or non-carcinogen is not scientifically credible. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2019;103:124-129. doi:10.1016/j.yrtph.2019.01.024
16. Corvi R, Madia F, Guyton KZ, et al. Moving forward in carcinogenicity assessment: Report of an EURL ECVAM/ESTIV workshop. *Toxicol In Vitro*. 2017;45(Pt 3):278-286. doi:10.1016/j.tiv.2017.09.010
17. Reddy MV, Sistare FD, Christensen JS, et al. An evaluation of chronic 6- and 12-month rat toxicology studies as predictors of 2-year tumor outcome. *Vet Pathol*. 2010;47(4):614-629. doi:10.1177/0300985810373242
18. van der Laan JW, Buitenhuis WH, Wagenaar L, et al. Prediction of the carcinogenic potential of human pharmaceuticals using repeated dose toxicity data and their pharmacological properties. *Front Med (Lausanne)*. 2016;3:45. doi:10.3389/fmed.2016.00045
19. Urano K, Tamaoki N, Nomura T. Establishing a laboratory animal model from a transgenic animal: RasH2 mice as a model for carcinogenicity studies in regulatory science. *Vet Pathol*. 2012;49(1):16-23. doi:10.1177/0300985811430318
20. U.S. NIOSH (United States of America National Institute for Occupational Safety and Health). NIOSH Chemical Carcinogen Policy (DHHS (NIOSH) Publication Number 2017-100) [internet]. Washington, D.C.: United States Department of Health and Human Services; 2017 [citado Mayo 2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2017-100/default.html>
21. ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use). S1B Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals – S1B Guideline [internet]. Geneva: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 1997 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.ich.org/page/safety-guidelines>
22. Eaton DL, Gilbert SG. Principles of Toxicology (Chapter 2). In: Klaassen CD, editor. *Casarett & Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, 8th edition. McGraw-Hill Education medical; 2013. p. 13-48.
23. Rahman MA, Lin KK. A comparison of false positive rates of peto and poly-3 methods for long-term carcinogenicity data analysis using multiple comparison adjustment method suggested by Lin and Rahman. *J Biopharm Stat*. 2008;18(5):949-958. doi:10.1080/10543400802287628
24. Kodell RL. Should we assess tumorigenicity with the Peto or Poly-k test? *Stat Biopharm Res*. 2012;4(2):118-124. doi:10.1198/sbr.2010.1003
25. Meek ME, Bucher JR, Cohen SM, et al. A framework for human relevance analysis of information on carcinogenic modes of action. *Crit Rev Toxicol*. 2003;33(6):591-653. doi:10.1080/713608373

26. Boobis AR, Cohen SM, Dellarco V, et al. IPCS framework for analyzing the relevance of a cancer mode of action for humans. *Crit Rev Toxicol*. 2006;36(10):781-792. doi:10.1080/10408440600977677
27. Meek ME, Boobis A, Cote I, et al. New developments in the evolution and application of the WHO/IPCS framework on mode of action/species concordance analysis. *J Appl Toxicol*. 2014;34(1):1-18. doi:10.1002/jat.2949
28. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Guidance for industry nonclinical studies for the safety evaluation of pharmaceutical excipients [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Drug Evaluation and Research; 2005 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/nonclinical-studies-safety-evaluation-pharmaceutical-excipients>
29. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food: Carcinogenicity testing VICH GL28 [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Veterinary Medicine; 2006 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/cvm-gfi-141-vich-gl28-studies-evaluate-safety-residues-veterinary-drugs-human-food-carcinogenicity>
30. U.S. Federal Register. 40 CFR Part 158 – Data requirements for pesticides [internet]. College Park: Office of the Federal Register; 2007 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.epa.gov/pesticide-registration/data-requirements-pesticide-registration#dh>
31. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Guidance for industry: Summary table of recommended toxicological testing for additives used in food [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition; 2006 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-summary-table-recommended-toxicological-testing-additives-used-food>
32. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Guidance for industry: Preparation of food contact notifications for food contact substances (toxicology recommendations) [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition; 2002 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ucm081825.htm>
33. Marchant GE. Regulatory toxicology (Chapter 35). In: Klaassen CD, editor. *Casarett & Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, 8th edition. McGraw-Hill Education medical; 2013. p. 1413-1425.
34. Thorne PS. Occupational Toxicology (Chapter 34). In: Klaassen CD, editor. *Casarett & Doull's Toxicology the Basic Science of Poisons*, 8th edition. McGraw-Hill Education medical; 2013. p. 1391-1411
35. Wilbourn J, Haroun L, Heseltine E, et al. Response of experimental animals to human carcinogens: an analysis based upon the IARC Monographs programme. *Carcinogenesis*. 1986;7(11):1853-1863. doi:10.1093/carcin/7.11.1853
36. Ennever FK, Lave LB. Implications of the lack of accuracy of the lifetime rodent bioassay for predicting human carcinogenicity. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2003;38(1):52-57. doi:10.1016/s0273-2300(03)00068-0
37. Ennever FK, Noonan TJ, Rosenkranz HS. The predictivity of animal bioassays and short-term genotoxicity tests for carcinogenicity and non-carcinogenicity to humans. *Mutagenesis*. 1987;2(2):73-78. doi:10.1093/mutage/2.2.73

38. Tomatis L. The IARC program on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. *Ann N Y Acad Sci.* 1976;271:396-409. doi:10.1111/j.1749-6632.1976.tb23139.x
39. Lave LB, Ennever FK, Rosenkranz HS, et al. Information value of the rodent bioassay. *Nature.* 1988;336(6200):631-633. doi:10.1038/336631a0
40. Knight A, Bailey J, Balcombe J. Animal carcinogenicity studies: 1. Poor human predictivity. *Altern Lab Anim.* 2006;34(1):19-27. doi:10.1177/026119290603400117
41. Suarez-Torres JD, Jimenez-Orozco FA, Ciangherotti CE. The 2-year rodent bioassay in drug and chemical carcinogenesis testing: Sensitivity, according to the framework of carcinogenic action. *Toxicol Mech Methods.* 2020;30(6):462-475. doi:10.1080/15376516.2020.1760986
42. Suarez-Torres JD, Jimenez-Orozco FA, Ciangherotti CE. Drug excipients, food additives, and cosmetic ingredients probably not carcinogenic to humans reveal a functional specificity for the 2-year rodent bioassay. *J Appl Toxicol.* 2020;40(8):1113-1130. doi:10.1002/jat.3971
43. Suarez-Torres JD, Orozco CA, Ciangherotti CE. The 2-year rodent bioassay in drug and chemical carcinogenicity testing: Performance, utility, and configuration for cancer hazard identification. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2021;110:107070. doi:10.1016/j.vascn.2021.107070
44. Suarez-Torres JD, Ciangherotti CE, Jimenez-Orozco FA. Insights into toxicology, safety pharmacology, and drug dependence testing: The performance and predictive values of nonclinical tests. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2020;103:106684. doi:10.1016/j.vascn.2020.106684
45. Alden CL, Lynn A, Bourdeau A, et al. A critical review of the effectiveness of rodent pharmaceutical carcinogenesis testing in predicting for human risk. *Vet Pathol.* 2011;48(3):772-784. doi:10.1177/0300985811400445
46. Billington R, Lewis RW, Mehta JM, Dewhurst I. The mouse carcinogenicity study is no longer a scientifically justifiable core data requirement for the safety assessment of pesticides. *Crit Rev Toxicol.* 2010;40(1):35-49. doi:10.3109/10408440903367741
47. Smith CJ, Perfetti TA. Tumor site concordance and genetic toxicology test correlations in NTP 2-year gavage, drinking water, dermal, and intraperitoneal injection studies. *Toxicol Res Appl.* 2018;2:2397847317751147. doi:10.1177/2397847317751147
48. Boobis AR, Cohen SM, Dellarco VL, et al. Classification schemes for carcinogenicity based on hazard-identification have become outmoded and serve neither science nor society. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2016;82:158-166. doi:10.1016/j.yrtph.2016.10.014
49. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). ZYRTEC® (cetirizine hydrochloride) tablets and syrup, for oral use (prescribing information) [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Drug Evaluation and Research; 2002 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2002/19835s15,%2020346s8lbl.pdf
50. U.S. NLM (United States of America National Library Medicine). PubChem - Hazardous Substances Data Bank (HSDB): Loratadine (CID 3957) [internet]. Bethesda: U.S. National Institutes of Health; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/source/hsdb/3578>

51. EMBL-EBI (European Molecular Biology Laboratory - European Bioinformatics Institute). Ensembl release 95, Whole-genome alignments [internet]. Cambridge: European Molecular Biology Laboratory - European Bioinformatics Institute; 2020 [citado Mayo 2022]. Disponible en: <http://www.ensembl.org/info/genomJCF Ae/compara/analyses.html>
52. Miller DC, Dunn RL, Wei JT. Assessing the Performance and Validity of Diagnostic Tests and Screening Programs (Chapter 10). In: Penson DF, Wei JT, editors. *Clinical Research Methods for Surgeons*, 1st edition. Humana Press; 2007. p. 157-174. doi:10.1007/978-1-59745-230-4_10
53. Valentin JP, Bialecki R, Ewart L, et al. A framework to assess the translation of safety pharmacology data to humans. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2009;60(2):152-158. doi:10.1016/j.vascn.2009.05.011
54. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment [internet]. Parma: European Commission; 2011 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.efsa.europa.eu/es/efsajournal/pub/2379>
55. Suarez-Torres JD, Ciangherotti CE, Orozco CA. Setting course for a translational pharmacology and predictive toxicology based on the numerical probability of clinical relevance. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. (Acceptance for publication pending on minor changes already requested by the referees).
56. Wassertheil-Smoller S, Smoller J. A Little Bit of Probability (Chapter 2). In: Wassertheil-Smoller S, Smoller J, editors. *Biostatistics and Epidemiology: A Primer for Health and Biomedical Professionals*, 4th edition. New York, NY: Springer New York; 2015. p. 17-25. doi:10.1007/978-1-4939-2134-8_2
57. IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans [internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer / World Health Organization; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://monographs.iarc.who.int/monographs-available/>
58. U.S. EPA (United States of America Environmental Protection Agency). IRIS Assessments [internet]. Washington, D.C: United States Environmental Protection Agency; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://iris.epa.gov/AtoZ/?list_type=alpha
59. U.S. NTP (United States of America National Toxicology Program). 14th Report on Carcinogens [internet]. Research Triangle Park: U.S. Department of Health and Human Services; 2016 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/assessments/cancer/roc/index.html>
60. U.S. NLM (United States of America National Library Medicine). Hazardous Substances Data Bank (HSDB) is now available through PubChem [internet]. Bethesda: U.S. National Institutes of Health; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
61. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Evaluations of the JECFA [internet]. Geneva (Switzerland): Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization of the United Nations) Expert Committee on Food Additives; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx>
62. U.S. NLM (United States of America National Library of Medicine). Chemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS) is now available through PubChem Substance [internet]. Bethesda: U.S. National Institutes of Health; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pcsubstance>
63. U.S. NLM (United States of America National Library of Medicine). Genetic Toxicology Data Bank (GENE-TOX) is now available through PubChem Substance [internet]. Bethesda: U.S. National Institutes of Health; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pcsubstance>

64. U.S. NTP (United States of America National Toxicology Program). Chemical Effects in Biological Systems (CEBS) [internet]. Research Triangle Park: U.S. National Institute of Environmental Health Sciences; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://manticore.niehs.nih.gov/cebssearch>
65. Corvi R, Madia F. EURL ECVAM Genotoxicity and Carcinogenicity Consolidated Database of Ames Positive Chemicals [internet]. Sevilla (Spain): European Commission, Joint Research Centre (JRC); 2018 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <http://data.europa.eu/89h/jrc-eurl-ecvam-genotoxicity-carcinogenicity-ames>
66. Lhasa Limited. Lhasa Carcinogenicity Database [internet]: Leeds: Lhasa Limited; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.lhasalimited.org/products/lhasa-carcinogenicity-database.htm>
67. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Drugs@FDA: FDA-Approved Drugs - Approval Date(s), History, Letters, Labels, and Reviews [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Drug Evaluation and Research; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/>
68. U.S. NTP (United States of America National Toxicology Program). Testing Status [internet]. Research Triangle Park: U.S. National Institute of Environmental Health Sciences; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://ntpsearch.niehs.nih.gov/?e=True&ContentType=Testing+Status>
69. Gold LS, Sawyer CB, Magaw R, et al. A carcinogenic potency database of the standardized results of animal bioassays. *Environ Health Perspect.* 1984;58:9-319. doi:10.1289/ehp.84589. *Bases de datos disponible desde:* <https://files.toxplanet.com/cpdb/chemnameindex.html>
70. ToxPlanet. ChemEXPERT™ [internet]. Wilmington (USA): Timberlake Ventures, Inc; 2020 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.toxplanet.com/collections-available-from-toxplanet.html>
71. Kadekar S, Peddada S, et al. Gender differences in chemical carcinogenesis in National Toxicology Program 2-year bioassays. *Toxicol Pathol.* 2012;40(8):1160-1168. doi:10.1177/0192623312446527
72. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). Series on testing and assessment - Guidance document No. 116: Guidance on the conduct and design of chronic toxicity and carcinogenicity Studies [internet]. Paris (France): OECD, 2012 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/series-testing-assessment-publications-number.htm>
73. McConnell EE, Solleveld HA, Swenberg JA, Boorman GA. Guidelines for combining neoplasms for evaluation of rodent carcinogenesis studies. *J Natl Cancer Inst.* 1986;76(2):283-289.
74. Suarez-Torres JD, Orozco CA, Ciangherotti CE. The numerical probability of carcinogenicity to humans of some pharmaceutical drugs: Alkylating agents, topoisomerase inhibitors or poisons, and DNA intercalators. *Fundam Clin Pharmacol.* 2021;10.1111/fcp.12674. doi:10.1111/fcp.12674
75. Suarez-Torres JD, Orozco CA, Ciangherotti CE. The numerical probability of carcinogenicity to humans of some antimicrobials: Nitro-monoaromatics (including 5-nitrofurans and 5-nitroimidazoles), quinoxaline-1,4-dioxides (including carbadox), and chloramphenicol. *Toxicol In Vitro.* 2021;75:105172. doi:10.1016/j.tiv.2021.105172
76. Smith MT, Guyton KZ, Gibbons CF, et al. Key Characteristics of Carcinogens as a Basis for Organizing Data on Mechanisms of Carcinogenesis. *Environ Health Perspect.* 2016;124(6):713-721. doi:10.1289/ehp.1509912

77. Guyton KZ, Rieswijk L, Wang A, Chiu WA, Smith MT. Key Characteristics Approach to Carcinogenic Hazard Identification. *Chem Res Toxicol*. 2018;31(12):1290-1292. doi:10.1021/acs.chemrestox.8b00321
78. JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Pesticide residues in food – Evaluations 1999. Part II, Toxicological: Permethrin [Internet]. Rome: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues; 1999 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v99pr07.htm>
79. Lauby-Secretan B, Loomis D, Baan R, et al. Use of mechanistic data in the IARC evaluations of the carcinogenicity of polychlorinated biphenyls and related compounds. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016;23(3):2220-2229. doi:10.1007/s11356-015-4829-4
80. Habibzadeh F, Habibzadeh P. The likelihood ratio and its graphical representation. *Biochem Med (Zagreb)*. 2019;29(2):020101. doi:10.11613/BM.2019.020101
81. Goodman SN. Toward evidence-based medical statistics. 2: The Bayes factor. *Ann Intern Med*. 1999;130(12):1005-1013. doi:10.7326/0003-4819-130-12-199906150-00019
82. Goodman SN. Toward evidence-based medical statistics. 1: The P value fallacy. *Ann Intern Med*. 1999;130(12):995-1004. doi:10.7326/0003-4819-130-12-199906150-00008
83. Rosenkranz HS, Ennever FK. An association between mutagenicity and carcinogenic potency. *Mutat Res*. 1990;244(1):61-65. doi:10.1016/0165-7992(90)90109-w
84. Suarez-Torres JD, Orozco CA, Ciangherotti CE. Applying Bayesian forecasting to predictive toxicology: The probability of innate carcinogenicity to humans of colorants synthesized from benzidine. *Toxicol Lett*. 2021;351:111-134. doi:10.1016/j.toxlet.2021.08.004
85. JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Inventory of evaluations performed by the Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR) [internet]. Rome: Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization of the United Nations) Meeting on Pesticide Residues; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://apps.who.int/pesticide-residues-jmpr-database>
86. JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). JMPR - Monographs & Evaluations (at IPCS INCHEM) [internet]. Rome: Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization of the United Nations) Meeting on Pesticide Residues; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://inchem.org/pages/jmpr.html>
87. EFSA (European Food Safety Authority). Publications (Topic: Food Ingredients and Packaging; Type: Scientific Opinion) [internet]. Parma: European Commission; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.efsa.europa.eu/es/efsajournal/pub/2379>
88. U.S. NTP (United States of America National Toxicology Program). Toxicology/Carcinogenicity (Study Overview and Database) [internet]. Research Triangle Park: U.S. National Institute of Environmental Health Sciences; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/testpgm/cartox/index.html>
89. Bhagat J. Combinations of genotoxic tests for the evaluation of group 1 IARC carcinogens. *J Appl Toxicol*. 2018;38(1):81-99. doi:10.1002/jat.3496

90. Kirkland D, Reeve L, Gatehouse D, Vanparys P. A core in vitro genotoxicity battery comprising the Ames test plus the in vitro micronucleus test is sufficient to detect rodent carcinogens and in vivo genotoxins. *Mutat Res.* 2011;721(1):27-73. doi:10.1016/j.mrgentox.2010.12.015
91. ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use). S1B(R1) Draft Guideline: Addendum to the Guideline on Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals S1B(R1) [internet]. Geneva: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.ich.org/page/safety-guidelines>
92. U.S. NTP (United States of America National Toxicology Program). Toxicology and Carcinogenesis Studies of C.I. Pigment Red 23 (CAS No. 6471-49-4) in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Feed Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser.* 1992;411:1-283. PMID: 12621519
93. U.S. NTP (United States of America National Toxicology Program). Toxicology and Carcinogenesis Studies of Malachite Green chloride and Leucomalachite Green (CAS NOs. 569-64-2 and 129-73-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser.* 2005;(527):1-312. PMID: 15891780
94. IARC (International Agency for Research on Cancer). Carbon Black, Titanium Dioxide, and Talc. IARC Monograph vol. 93 [internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer / World Health Organization; 2010 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://monographs.iarc.who.int/monographs-available/>
95. IARC (International Agency for Research on Cancer). Chemical Agents and Related Occupations. IARC Monograph vol. 100F [internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer / World Health Organization; 2012 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://monographs.iarc.who.int/monographs-available/>
96. Maltoni C, Ciliberti A, Cotti G, Perino G. Long-term carcinogenicity bioassays on acrylonitrile administered by inhalation and by ingestion to Sprague-Dawley rats. *Ann N Y Acad Sci.* 1988;534:179-202. doi:10.1111/j.1749-6632.1988.tb30111.x
97. Gaylor DW. Are tumor incidence rates from chronic bioassays telling us what we need to know about carcinogens?. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2005;41(2):128-133. doi:10.1016/j.yrtph.2004.11.001
98. Fung VA, Barrett JC, Huff J. The carcinogenesis bioassay in perspective: application in identifying human cancer hazards. *Environ Health Perspect.* 1995;103(7-8):680-683. doi:10.1289/ehp.95103680
99. McConnell EE. The Maximum Tolerated Dose: The Debate. *J Am Coll Toxicol.* 1989;8(6):1115-1120. doi:10.3109/10915818909018071
100. Akobeng AK. Understanding type I and type II errors, statistical power and sample size. *Acta Paediatr.* 2016;105(6):605-609. doi:10.1111/apa.13384
101. Bogdanffy MS, Lesniak J, Mangipudy R, et al. Tg.rasH2 Mouse Model for Assessing Carcinogenic Potential of Pharmaceuticals: Industry Survey of Current Practices. *Int J Toxicol.* 2020;39(3):198-206. doi:10.1177/1091581820919896
102. NC3Rs (National Centre for the Replacement, Refinement, and Reduction of Animals in Research). Review of the use of two species in regulatory toxicology studies [internet]. London (England): National Centre for the Replacement, Refinement, and Reduction of Animals in Research; 2021 [citado Mayo de 2022]. Disponible desde: <https://www.nc3rs.org.uk/review-use-two-species-regulatory-toxicology-studies>

103. Heusinkveld H, Braakhuis H, Gommans R, et al. Towards a mechanism-based approach for the prediction of nongenotoxic carcinogenic potential of agrochemicals. *Crit Rev Toxicol.* 2020;50(9):725-739. doi:10.1080/10408444.2020.1841732
104. Cohen SM. Alternative models for carcinogenicity testing: weight of evidence evaluations across models. *Toxicol Pathol.* 2001;29 Suppl:183-190. doi:10.1080/019262301753178609
105. Sistare FD, Morton D, Alden C, et al. An analysis of pharmaceutical experience with decades of rat carcinogenicity testing: support for a proposal to modify current regulatory guidelines. *Toxicol Pathol.* 2011;39(4):716-744. doi:10.1177/0192623311406935
106. Morton D, Alden CL, Roth AJ, Usui T. The Tg rasH2 mouse in cancer hazard identification. *Toxicol Pathol.* 2002;30(1):139-146. doi:10.1080/01926230252824851
107. Cohen SM, Klaunig J, Meek ME, et al. Evaluating the human relevance of chemically induced animal tumors. *Toxicol Sci.* 2004;78(2):181-186. doi:10.1093/toxsci/kfh073
108. Corton JC, Peters JM, Klaunig JE. The PPAR α -dependent rodent liver tumor response is not relevant to humans: addressing misconceptions. *Arch Toxicol.* 2018;92(1):83-119. doi:10.1007/s00204-017-2094-7
109. ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use). E14/S7B IWG, Question & Answers: Clinical and Nonclinical Evaluation of QT/QTc Interval Prolongation and Proarrhythmic Potential [internet]. Geneva: ICH; 2018 [citado Mayo de 2022]. Disponible desde: <https://www.ich.org/page/safety-guidelines>
110. Suarez-Torres JD, Ciangherotti CE, Jimenez-Orozco FA. The predictivity of the -alert performance- functionality of the OECD QSAR-Toolbox (c/w further issues on the predictivity of nonclinical testing). *Toxicol In Vitro.* 2020;66:104858. doi:10.1016/j.tiv.2020.104858
111. Greenland S. Bayesian perspectives for epidemiological research: I. Foundations and basic methods. *Int J Epidemiol.* 2006;35(3):765-775. doi:10.1093/ije/dyi312
112. Carlin BP, Louis TA. Approaches for statistical inference (Chapter 1) - Bayesian Methods for Data Analysis (3rd edition). In: Carlin BP, Louis TA, eds. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC; 2008. doi:10.1201/b14884
113. Dunson DB, Rubin DB, Carlin JB, et al. Probability and inference (Chapter 1) - Bayesian Data Analysis (3rd edition). In: Dunson DB, Rubin DB, Carlin JB, et al., eds. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC; 2013. doi:10.1201/b16018
114. Efron B. Controversies in the Foundations of Statistics. *Am Math Mon.* 1978;85(4):231-246. doi:10.1080/00029890.1978.11994566
115. Kadane JB, Schervish MJ, Seidenfeld T. Introduction. In: Rethinking the Foundations of Statistics. Cambridge Studies in Probability, Induction and Decision Theory. Cambridge: Cambridge University Press; 1999:1-14. doi:10.1017/CBO9781139173230.001
116. Snyder RD, McNulty J, Zairov G, Ewing DE, Hendry LB. The influence of N-dialkyl and other cationic substituents on DNA intercalation and genotoxicity. *Mutat Res.* 2005;578(1-2):88-99. doi:10.1016/j.mrfmmm.2005.03.022

- 117.Snyder RD. Assessment of atypical DNA intercalating agents in biological and in silico systems. *Mutat Res.* 2007;623(1-2):72-82. doi:10.1016/j.mrfmmm.2007.03.006
- 118.Snyder RD, Arnone MR. Putative identification of functional interactions between DNA intercalating agents and topoisomerase II using the V79 in vitro micronucleus assay. *Mutat Res.* 2002;503(1-2):21-35. doi:10.1016/s0027-5107(02)00028-3
- 119.Turner PR, Denny WA. The mutagenic properties of DNA minor-groove binding ligands. *Mutat Res.* 1996;355(1-2):141-169. doi:10.1016/0027-5107(96)00027-9
- 120.Baguley BC, Ferguson LR. Mutagenic properties of topoisomerase-targeted drugs. *Biochim Biophys Acta.* 1998;1400(1-3):213-222. doi:10.1016/s0167-4781(98)00137-7
- 121.Anderson RD, Berger NA. Mutagenicity and carcinogenicity of topoisomerase-interactive agents. *Mutat Res.* 1994;309(1):109-142. doi:10.1016/0027-5107(94)90048-5
- 122.Shrivastav N, Li D, Essigmann JM. Chemical biology of mutagenesis and DNA repair: cellular responses to DNA alkylation. *Carcinogenesis.* 2010;31(1):59-70. doi:10.1093/carcin/bgp262
- 123.Lawley PD. Some chemical aspects of dose-response relationships in alkylation mutagenesis. *Mutat Res.* 1974;23(3):283-295. doi:10.1016/0027-5107(74)90102-x
- 124.Cheng KC, Cahill DS, Kasai H, Nishimura S, Loeb LA. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G----T and A----C substitutions. *J Biol Chem.* 1992;267(1):166-172.
- 125.Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat Res.* 1997;387(3):147-163. doi:10.1016/s1383-5742(97)00035-5
- 126.Streeter AJ, Hoener BA. Evidence for the involvement of a nitrenium ion in the covalent binding of nitrofurazone to DNA. *Pharm Res.* 1988;5(7):434-436. doi:10.1023/a:1015988401601
- 127.Kedderis GL, Miwa GT. The metabolic activation of nitroheterocyclic therapeutic agents. *Drug Metab Rev.* 1988;19(1):33-62. doi:10.3109/03602538809049618
- 128.Edwards DI. Reduction of nitroimidazoles in vitro and DNA damage. *Biochem Pharmacol.* 1986;35(1):53-58. doi:10.1016/0006-2952(86)90554-x
- 129.Nishimoto M, Roubal WT, Stein JE, Varanasi U. Oxidative DNA damage in tissues of English sole (*Parophrys vetulus*) exposed to nitrofurantoin. *Chem Biol Interact.* 1991;80(3):317-326. doi:10.1016/0009-2797(91)90091-k
- 130.Brezden CB, Horn L, McClelland RA, Rauth AM. Oxidative stress and 1-methyl-2-nitroimidazole cytotoxicity. *Biochem Pharmacol.* 1998;56(3):335-344. doi:10.1016/s0006-2952(98)00158-0
- 131.Unfried K, Schürkes C, Abel J. Distinct spectrum of mutations induced by crocidolite asbestos: clue for 8-hydroxydeoxyguanosine-dependent mutagenesis in vivo. *Cancer Res.* 2002;62(1):99-104.
- 132.Hiraku Y, Sekine A, Nabeshi H, et al. Mechanism of carcinogenesis induced by a veterinary antimicrobial drug, nitrofurazone, via oxidative DNA damage and cell proliferation. *Cancer Lett.* 2004;215(2):141-150. doi:10.1016/j.canlet.2004.05.016

133. Shamovsky I, Ripa L, Börjesson L, et al. Explanation for main features of structure-genotoxicity relationships of aromatic amines by theoretical studies of their activation pathways in CYP1A2. *J Am Chem Soc.* 2011;133(40):16168-16185. doi:10.1021/ja206427u
134. Wang X, Martínez MA, Cheng G, et al. The critical role of oxidative stress in the toxicity and metabolism of quinoxaline 1,4-di-N-oxides in vitro and in vivo. *Drug Metab Rev.* 2016;48(2):159-182. doi:10.1080/03602532.2016.1189560
135. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). ZINECARD® (dexrazoxane) for injection (prescribing information) [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Drug Evaluation and Research; 2014 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/020212s017bl.pdf
136. Loomis D, Guyton KZ, Straif K, Wild CP. Classification schemes for carcinogenicity based on hazard identification serve science and society. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2017;88:356-357. doi:10.1016/j.yrtph.2017.02.010
137. Boobis AR, Cohen SM, Dellarco VL, et al. Response to Loomis et al Comment on Boobis et al. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2017;88:358-359. doi:10.1016/j.yrtph.2017.02.011
138. U.S. NIOSH (United States of America National Institute for Occupational Safety and Health). What is an acceptable risk of cancer due to occupational exposure to a carcinogen? [internet]. Washington, D.C.: U.S. NIOSH Education and Information Division; 2015 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.cdc.gov/niosh/nioshtic-2/20045880.html>
139. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Freedom of Information Summary: Mecadox® 10 Type A Medicated Article (NADA 041-061) [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Veterinary Medicine; 1998 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://animaldrugsatfda.fda.gov/adafda/app/search/public/document/downloadFoi/1673>
140. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). T.A.L.K. antes de tratar [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Veterinary Medicine; 2018 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/animal-health-literacy/talk-antes-de-tratar>
141. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). FDA Removes 7 Synthetic Flavoring Substances from Food Additives List [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition; 2018 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/food/cfsan-constituent-updates/fda-removes-7-synthetic-flavoring-substances-food-additives-list>
142. Merrill RA. Food safety regulation: reforming the Delaney Clause. *Annu Rev Public Health.* 1997;18:313-340. doi:10.1146/annurev.publhealth.18.1.313
143. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). MACRODANTIN - nitrofurantoin, macrocrystalline capsule (prescribing information) [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Drug Evaluation and Research; 2009 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/016620s068bl.pdf
144. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, et al. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D1074-D1082. doi:10.1093/nar/gkx1037
145. EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Younes M, Aggett P, et al. Re-evaluation of aluminium sulphates (E 520-523) and sodium aluminium

- phosphate (E 541) as food additives. EFSA J. 2018;16(7):e05372. doi:10.2903/j.efsa.2018.5372. Disponible desde: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5372>
- 146.EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids, and Food Contact Materials on a request from the European Commission on the Safety of Aluminium from Dietary Intake. The EFSA Journal (2008) 754, 1-34. Disponible desde: <https://www.efsa.europa.eu/es/efsajournal/pub/754>
- 147.OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). The OECD QSAR Toolbox (v.4.4.1) [internet]. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development; 2020 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecd-qsar-toolbox.htm>
- 148.Benigni R, Bossa C. Structure alerts for carcinogenicity, and the Salmonella assay system: a novel insight through the chemical relational databases technology. Mutat Res. 2008;659(3):248-261. doi:10.1016/j.mrrev.2008.05.003
- 149.Jung R, Steinle D, Anliker R. A compilation of genotoxicity and carcinogenicity data on aromatic aminosulphonic acids. Food Chem Toxicol. 1992;30(7):635-660. doi:10.1016/0278-6915(92)90199-u
- 150.U.S. NLM (United States of America National Library Medicine). PubChem (The Open Chemistry Database at the U.S. NIH) [internet]. Bethesda: U.S. National Institutes of Health; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- 151.CAS (Chemical Abstract Service of the American Chemical Society) Common Chemistry. Search by chemical compound name, SMILES, InChI, or CAS Registry Number® (CASRN®) [internet]. Washington, D.C: American Chemical Society; 2021 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://commonchemistry.cas.org/>
- 152.EMA (European Medicines Agency). Abamectin Summary Report (1) Updated [internet]. Amsterdam: European Medicines Agency, Committee for Veterinary Medicinal Products; 2002 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/abamectin-summary-report-1-updated-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf
- 153.JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Pesticide residues in food – Evaluations 2015. Part II, Toxicological: Abamectin [Internet]. Rome: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues; 2015 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241655316>
- 154.EMA (European Medicines Agency). Emamectin Summary Report (1) [internet]. Amsterdam: European Medicines Agency, Committee for Veterinary Medicinal Products; 1999 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/emamectin-summary-report-1-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf
- 155.EMA (European Medicines Agency). Eprinomectin Summary Report (1) [internet]. Amsterdam: European Medicines Agency, Committee for Veterinary Medicinal Products; 1996 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/eprinomectin-summary-report-1-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf
- 156.Bradshaw PR, Wilson ID, Gill RU, Butler PJ, Dilworth C, Athersuch TJ. Metabolic Hydrolysis of Aromatic Amides in Selected Rat, Minipig, and Human In Vitro Systems. Sci Rep. 2018;8(1):2405. Published 2018 Feb 5. doi:10.1038/s41598-018-20464-4

157. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additives Series No. 41: Eprinomectin [internet]. Geneva (Switzerland): Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization of the United Nations) Expert Committee on Food Additives; 1998 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://inchem.org/pages/jecfa.html>
158. EMA (European Medicines Agency). Doramectin Summary Report (1) [internet]. Amsterdam: European Medicines Agency, Committee for Veterinary Medicinal Products; 1997 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/doramectin-summary-report-1-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf
159. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additives Series No. 36: Doramectin [internet]. Geneva (Switzerland): Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization of the United Nations) Expert Committee on Food Additives; 1996 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://inchem.org/pages/jecfa.html>
160. EMA (European Medicines Agency). Ivermectin Summary Report (1) [internet]. Amsterdam: European Medicines Agency, Committee for Veterinary Medicinal Products; *año de publicación desconocido (aprox., entre 1990 y 2000, a juzgar por otras publicaciones similares de esta agencia* [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/ivermectin-summary-report-1-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf
161. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additives Series No. 27: Ivermectin [internet]. Geneva (Switzerland): Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations / World Health Organization of the United Nations) Expert Committee on Food Additives; 1991 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://inchem.org/pages/jecfa.html>
162. EFSA (European Food Safety Authority). Reasoned opinion on the review of the existing maximum residue levels (MRLs) for milbemectin according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. EFSA Journal 2012;10(3):2629. Disponible desde: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2012.2629>
163. U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). TRIFEXIS - Spinosad and milbemycin oxime tablet (prescribing information from the U.S. NLM DailyMed service [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Veterinary Medicine; 2018 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=b9e40668-b913-47e2-8cf4-8b3d3d29c6d4&type=display>
164. EMA (European Medicines Agency). Scientific discussion: COMFORTIS (spinosad) (EMA/V/C/002233) [internet]. Amsterdam: European Medicines Agency, Veterinary Medicines and Product Data Management; 2011 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/comfortis-epar-scientific-discussion_en.pdf
165. JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Pesticide residues in food – Evaluations 2006. Part II, Toxicological: Cyfluthrin/beta-Cyfluthrin [Internet]. Rome: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues; 2006 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241665223>
166. JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Pesticide residues in food – Evaluations 2007. Part II, Toxicological: lambda-Cyhalothrin [Internet]. Rome: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues; 2007 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241665230>

-
- 167.JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Pesticide residues in food – Evaluations 2006. Part II, Toxicological: Cypermethrins (including alpha- and zeta-cypermethrin) [Internet]. Rome: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues; 2006 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.who.int/publications/item/9789241665223>
- 168.EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on the re-evaluation of Quinoline Yellow (E104) as a food additive. EFSA Journal 2009; 7(11):1329. doi:10.2903/j.efsa.2009.1329
- 169.JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues). Pesticide residues in food – Evaluations 2000. Part II, Toxicological: Deltamethrin [Internet]. Rome: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues; 2000 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: https://inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v00pr04.htm#_00042230
- 170.U.S. NCI (United States of America National Cancer Institute). Bioassay of ICRF-159 for possible carcinogenicity. Natl Cancer Inst Carcinog Tech Rep Ser. 1978;78:1-113. PMID: 12830219
- 171.U.S. FDA (United States of America Food and Drug Administration). Questions and Answers regarding Carbadox [internet]. Silver Spring: U.S. FDA Center for Veterinary Medicine; 2022 [citado Mayo 2022]. Disponible desde: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/product-safety-information/questions-and-answers-regarding-carbadox>

17. Anexo A: Tablas Suplementarias

Tabla A1. (Datos). Desenlaces en el RCB de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* reconocidos en esta tesis

#	Nombre genérico de la sustancia (pura o mezcla) ▲	CASRN®	Desenlace en el RCB ¥		Mecanismo de acción mutagénica
			RCB-rata (ruta)	RCB-ratón (ruta)	
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión● probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)</i>					
1	<i>Acetaldehyde</i>	75-07-0	+ (p.o.)		Aducción covalente al ADN
2	<i>Aflatoxins</i>	1162-65-8	+ (p.o.)	+ (p.o.)	
3	<i>Aristolochic Acids</i>	313-67-7; 475-80-9	+ (p.o.)	+ (p.o.)	
4	<i>Azathioprine</i>	446-86-6	+ (p.o.) (i.p.)	+ (p.o.) (i.m.)	Inhibición de polimerasas de ADN humanas
5	<i>Betel quid w/o tobacco §</i>		+ (s.c.)	+ (p.o.) (s.c.)	Aducción covalente al ADN ♣
6	<i>Busulfan</i>	55-98-1		+ (i.v.) (i.p.)	Aducción covalente al ADN
7	<i>Chlorambucil</i>	305-03-3; 1030-06-4	+ (p.o.) (i.p.)	+ (p.o.)	
8	<i>Chlornaphazine</i>	494-03-1	+ (s.c.)		
9	<i>Cyclophosphamide</i>	50-18-0; 6055-19-2	+ (p.o.)	+ (p.o.) (s.c.)	
10	<i>Diethylstilbestrol</i>	56-53-1	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Aducción covalente al ADN; Inhibición de la topoisomerasa I
11	<i>Ethanol</i>	64-17-5	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Aducción covalente al ADN (por metabolismo hepático a acetaldehído)
12	<i>Formaldehyde</i>	50-00-0	- (p.o.)		Aducción covalente al ADN
13	<i>Melphalan</i>	148-82-3; 3223-07-2	+ (i.p.)	+ (i.p.)	
14	<i>Methoxsalen plus UVA</i>	298-81-7	+ (p.o.)	+ (p.o.)	
15	<i>Phenacetin</i>	62-44-2	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Unión al ADN de tipo aún no caracterizado
16	<i>Semustine</i>	13909-09-6	+ (i.p.)	+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN
17	<i>Smokeless Tobacco</i>		+ (p.o.)	+ (p.o.)	
18	<i>Tamoxifen</i>	10540-29-1; 54965-24-1	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Aducción covalente al ADN; Intercalado en el ADN
19	<i>Thiotepa</i>	52-24-4	+ (i.p.)	+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN

(continúa)

Tabla A1. (Datos). Desenlaces en el RCB de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* reconocidos en esta tesis (*continuación*)

#	Nombre genérico de la sustancia (pura o mezcla) ▲	CASRN®	Desenlace en el RCB ¶		Mecanismo de acción mutagénica
			RCB-rata (ruta)	RCB-ratón (ruta)	
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación● probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)</i>					
1	<i>4-Aminobiphenyl</i>	92-67-1; 2113-61-3	+ (s.c.)	+ (p.o.)	Aducción covalente al ADN
2	<i>Benzene</i>	71-43-2	+ (inh.) (p.o.)	+ (inh.) (p.o.)	Inhibición de la topoisomerasa II; Aducción covalente al ADN ♣
3	<i>Benzidine</i>	92-87-5; 531-85-1	+ (p.o.) (s.c.)	+ (p.o.) (s.c.)	Aducción covalente al ADN
4	<i>Benzo[a]pyrene</i>	50-32-8	+ (i.tra) (p.o.)	+ (p.o.) (i.p.)	
5	<i>Bis(chloromethyl) ether</i>	542-88-1	+ (inh.) (s.c.)	+ (inh.) (s.c.)	
6	<i>1,3-Butadiene</i>	106-99-0	+ (inh.)	+ (inh.)	
7	<i>Chloroethylene</i>	75-01-4	+ (inh.) (p.o.)	+ (inh.)	
8	<i>Calcium chromate</i>	13765-19-0	+ (i.trach) (s.c.)	+ (inh.) (i.m.)	
9	<i>Sodium dichromate</i>	7789-12-0	+ (i.trach)	+ (p.o.)	
10	<i>Chromium trioxide</i>	1333-82-0	+ (i.m.)	+ (inh.)	
11	<i>Coal-combustion Emissions</i>		+ (inh.)	+ (inh.)	
12	<i>Coal Tar</i>	8007-45-2	+ (inh.)	+ (inh.)	
13	<i>Coal-Tar Pitch</i>		+ (inh.)	+ (skin)	
14	<i>Coke-Oven Emissions</i>			+ (skin)	
15	<i>1,2-Dichloropropane</i>	78-87-5	+ (inh.) (p.o.)	+ (inh.) (p.o.)	
16	<i>Diesel Engine Exhaust</i>		+ (inh.)	+ (inh.)	
17	<i>Formaldehyde</i>	50-00-0	+ (inh.)	- (inh.)	
18	<i>2-Naphthylamine</i>	91-59-8	+ (p.o.)	+ (p.o.)	
19	<i>Sulfur mustard</i>	505-60-2	+ (inh.)		
20	<i>Tobacco Smoke</i>		+ (inh.)	+ (inh.)	
21	<i>ortho-Toluidine</i>	95-53-4; 636-21-5	+ (p.o.)	+ (p.o.)	

RCB: Bioensayo de carcinogenicidad en roedores a 2-años; **i.m.:** inyección intramuscular; **inh:** inhalación; **i.p.:** inyección intraperitoneal; **i.tra.:** instilación intratraqueal; **i.v.:** inyección intravenosa; **p.o.:** vía oral; **skin:** aplicación dérmica; **s.c.:** inyección subcutánea; **§** Extractos acuosos de la nuez de areca; **♣** Junto con aducción oxidativa del ADN (p. ej., 8-oxoG; 8-OH-dG); **Ω** basado en la significativa o sustancial biodisponibilidad oral (o inhalatoria) indicada por los estudios de farmacocinética disponibles en la literatura, la carcinogenicidad de

esta sustancia en roedores puede extrapolarse con razonable confianza a la vía oral (o inhalatoria); ● La vía (o ruta) de carcinogenicidad de los distintos carcinógenos de humanos se reconoció en esta tesis de acuerdo a lo explicado en la [sección 9.3.3](#); ▲ las sustancias carcinogénicas en humanos se identificaron en esta tesis de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.2](#); ¥ Desenlaces reconocidos de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.3](#). **Nota #1:** Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura. **Nota #2:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [72,73].

Tabla A2. (Datos). Datos de toxicología genética de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* reconocidos en esta tesis

#	Nombre genérico de la sustancia ▲	CASRN®	Mutagénesis		Clastogénesis		Daño al ADN		Criterio ♦
			in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión● probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)</i>									
1	<i>Acetaldehyde</i>	75-07-0	+ (HUM)		+ (MLA, MN, CA)	+ (CA)		+ (SCE)	1, 2
2	<i>Aflatoxins</i>	1162-65-8	+ (Ames, V79)	+ (BBM, BBR)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (COMET, SCE)	1, 2, 3, 4, 5
3	<i>Aristolochic Acids</i>	313-67-7	+ (Ames, CHO)	+ (MM, BBR)	+ (MLA)	+ (MN)		+ (COMET)	1, 3, 5
4	<i>Azathioprine</i>	446-86-6	+ (Ames)	+ (Pig-A, MM)	+ (CA)	+ (MN, CA)			1, 3
5	<i>Betel quid w/o tobacco §</i>		+ (Ames, V79)		+ (MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (SCE)	1, 2, 4, 5
6	<i>Busulfan</i>	55-98-1	+ (Ames)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)			1, 2
7	<i>Chlorambucil</i>	305-03-3	+ (Ames, V79)	+ (Pig-A, MM)	+ (CA)	+ (MN, CA, DLM)			1, 3, 5
8	<i>Chlornaphazine</i>	494-03-1	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN, DLM)	+ (UDS)		1, 2
9	<i>Cyclophosphamide</i>	50-18-0	+ (Ames, CHO)	+ (Pig-A, MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (COMET, SCE)	1, 2, 3, 4, 5
10	<i>Diethylstilbestrol</i>	56-53-1	- (Ames)	+ (SYR)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (COMET, SCE)	+ (SCE)	1, 2, 4
11	<i>Ethanol</i>	64-17-5	+ (HUM)		+ (MLA, MN, CA)	+ (CA)		+ (SCE)	1, 2
12	<i>Melphalan</i>	148-82-3	+ (Ames)	+ (Pig-A)	+ (CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)	+ (COMET)	1, 2, 3, 4
13	<i>Methoxsalen plus UVA</i>	298-81-7	+ (Ames, V79)		+ (MN, CA)	+ (CA)		+ (SCE)	1, 2, 5

(continúa)

Tabla A2. (Datos). Datos de toxicología genética de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* reconocidos en esta tesis (*continuación*)

#	Nombre genérico de la sustancia ▲	CASRN®	Mutagénesis		Clastogénesis		Daño al ADN		Criterio ♦
			in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión • probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)</i>									
14	<i>Phenacetin</i>	62-44-2	+ (Ames, V79)	+ (Gpt-delta-Rat)	+ (CA)	+ (MN, CA)		+ (COMET, SCE)	1, 3, 4, 5
15	<i>Semustine</i>	13909-09-6	+ (Ames)		+ (MN, CA)	+ (MN)	+ (SCE)		2
16	<i>Smokeless Tobacco</i>		+ (Ames, V79)	+ (MM)	+ (MN, CA)	+ (MN)		+ (COMET)	1, 2, 3, 5
17	<i>Tamoxifen</i>	10540-29-1	+ (Ames, <i>E.coli</i> , CHO)	+ (BBR)	+ (MN)	+ (CA)	+ (COMET)		2, 3, 5
18	<i>Thiotepa</i>	52-24-4	+ (Ames, <i>E.coli</i> , V79)	+ (Pig-A, BBR)	+ (MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)	+ (SCE)	1, 2, 3, 4, 5
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación • probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)</i>									
1	<i>4-Aminobiphenyl</i>	92-67-1	+ (Ames, CHO)	+ (MM)	+ (MLA, CA)	+ (MN, CA)	+ (COMET)	+ (SCE)	1, 2, 3, 4, 5
2	<i>Benzene</i>	71-43-2		+ (BBM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (COMET)	+ (SCE)	1, 2, 4
3	<i>Benzidine</i>	92-87-5	+ (Ames, V79)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (COMET)	+ (SCE)	1, 2, 4, 5
4	<i>Benzo[a]pyrene</i>	50-32-8	+ (Ames, CHO, V79)	+ (Pig-A, MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)	+ (SCE, COMET)	1, 2, 3, 4, 5
5	<i>Bis(chloromethyl) ether</i>	542-88-1	+ (Ames)			+ (MN, DLM)	+ (UDS)		1
6	<i>1,3-Butadiene</i>	106-99-0	+ (Ames)	+ (BBM)		+ (MN, CA)		- (UDS, COMET)	1, 3
7	<i>Chloroethylene</i>	75-01-4	+ (Ames, V79)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)	+ (SCE)	1, 2, 4, 5
8	<i>Chromium (VI) compounds</i>	13765-19-0; 7789-12-0; 1333-82-0	+ (Ames)	+ (MM)	+ (CA)	+ (MN; DLM)	+ (SCE)		1, 2, 3
9	<i>Coal-combustion Emissions</i>		+ (Ames, V79)	+ (Pig-A, MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)			1, 2, 3, 5

(continúa)

Tabla A2. (Datos). Datos de toxicología genética de los *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* reconocidos en esta tesis (*continuación*)

#	Nombre genérico de la sustancia ▲	CASRN®	Mutagénesis		Clastogénesis		Daño al ADN		Criterio ♦
			in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación● probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)</i>									
10	Coal Tar	8007-45-2	+ (Ames, V79)	+ (Pig-A, MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)			1, 2, 3, 5
11	Coal-Tar Pitch		+ (Ames, V79)	+ (Pig-A, MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)			1, 2, 3, 5
12	Coke-Oven Emissions		+ (Ames, V79)	+ (Pig-A, MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)			1, 2, 3, 5
13	1,2-Dichloropropane	78-87-5	+ (Ames)	+ (Gpt-delta-Mouse)	+ (MLA, MN, CA)		+ (SCE)	+ (COMET)	2, 3
14	Diesel Engine Exhaust		+ (Ames, V79)	+ (Pig-A, MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)			1, 2, 3, 5
15	Formaldehyde	50-00-0	+ (Ames, CHO, V79)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)		1, 2, 5
16	2-Naphthylamine	91-59-8	+ (Ames, V79)		+ (MLA, CA)	+ (MN)		+ (COMET, SCE)	1, 2, 4, 5
17	Sulfur mustard	505-60-2	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN, DLM)	+ (SCE)		1, 2
18	Tobacco Smoke		+ (Ames, V79)	+ (MM)	+ (MN, CA)	+ (MN)		+ (COMET)	1, 2, 3, 5
19	ortho-Toluidine	95-53-4	+ (Ames, V79)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN)		+ (COMET, SCE)	1, 2, 4, 5

Ames: Bacterial Reverse Mutation Test; **BBM:** Big Blue transgenic Mouse (gen mutado: lacZ o lacI); **BBR:** Big Blue transgenic Rat (gen mutado: lacZ o lacI); **CA:** aberraciones cromosómicas en células de roedores o humanas (in vitro), o en roedores expuestos a la sustancia de prueba (in vivo); **CASRN®:** Número de registro en el Servicio de Resúmenes Químicos de la Sociedad Química Americana (CAS ACS); **CHO/CHL:** mutagénesis in vitro en células de ovario o pulmón de hámster chino (líneas celulares: CHO or CHL; gen mutado: HPRT/HGPRT); **COMET:** bioensayos (in vitro o in vivo) de daño al o rotura del ADN; **DLM:** rodent dominant lethal assay; **HPRT:** mutagénesis en ovejas (in vivo) en el gen HPRT (*hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase*); **E. coli:** bioensayos de mutagenicidad in vitro conocidos con los acrónimos de WP2 y WP2 uvrA; **HUM:** mutagénesis en células humanas (in vitro); **Gpt-delta-Mouse:** Gpt delta mouse, transgenic (mutagénesis química in vivo); **Gpt-delta-Rat:** Gpt delta rat, transgenic (mutagénesis química in vivo); **MLA:** bioensayo de mutagénesis o clastogénesis in vitro conocido como mouse lymphoma assay (gen mutado: TK locus); **MM:** MutaMouse, mutagenesis química in vivo en ratones transgénicos (gen mutado: lacZ); **MN:** Prueba de micronúcleos in vitro (con células de roedores o humanas) o in vivo (en roedores expuestos a la sustancia de prueba); **Pig-A:** bioensayo en roedores de mutagenicidad in vivo (gen mutado: PIG-A); **SCE:** bioensayo in vitro (con células de roedores o humanas) o in vivo (en roedores expuestos a la sustancia de prueba) conocido como Intercambios entre Cromátidas Hermanas; **SYR:** mutagénesis in vitro en líneas celulares de hámster Sirio; **UDS:** bioensayo de síntesis de ADN no-programada (ya sea in vitro o in vivo); **V79:** mutagénesis in vitro en la línea celular V79 de hámster chino (gen mutado: HPRT/HGPRT). ♦ Para el conjunto de sustancias presentadas en esta, las cuales son ampliamente

consideradas en la literatura como *mutágenos inequívocos*, *mutágenos trans-especies*, y *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, la columna nombrada “**Criterio ♦**” especifica la combinación de datos de genotoxicidad que, de acuerdo a lo especificado en las [Tabla 6 \(sección 9.3.3\)](#) y [Tabla A3 \(Apéndice\)](#), se usaron en esta tesis para identificar a las sustancias diana del objetivo específico #3 ([Tabla 16](#)). **Nota #1:** Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura. **Nota #2:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [72,73].

Tabla A3. (*Metodología*). Validación de los criterios empleados en esta tesis para identificar *sustancias con mutagenicidad innata para los humanos*

Sustancias ampliamente reconocidas en la literatura como <i>carcinógenos de humanos de tipo mutagénico</i>	CASRN	Criterio (derivados de patrones generales de comportamiento mutagénico y genotóxico)				
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
<i>Acetaldehyde</i>	75-07-0	+	+			
<i>Aflatoxins</i>	1162-65-8	+	+	+	+	+
<i>Aristolochic Acids</i>	313-67-7	+		+		+
<i>Azathioprine</i>	446-86-6	+		+		
<i>Betel quid w/o tobacco §</i>		+	+		+	+
<i>Busulfan</i>	55-98-1	+	+			
<i>Chlorambucil</i>	305-03-3	+		+		+
<i>Chlornaphazine</i>	494-03-1	+	+			
<i>Cyclophosphamide</i>	50-18-0	+	+	+	+	+
<i>Diethylstilbestrol</i>	56-53-1	+	+		+	
<i>Ethanol</i>	64-17-5	+	+			
<i>Melphalan</i>	148-82-3	+	+	+	+	
<i>Methoxsalen plus UVA</i>	298-81-7	+	+			+
<i>Phenacetin</i>	62-44-2	+		+	+	+
<i>Semustine</i>	13909-09-6		+			
<i>Smokeless Tobacco</i>		+	+	+		+
<i>Tamoxifen</i>	10540-29-1		+	+		+
<i>Thiotepa</i>	52-24-4	+	+	+	+	+
<i>4-Aminobiphenyl</i>	92-67-1	+	+	+	+	+

(continúa)

Tabla A3. Validación de los criterios empleados en esta tesis para identificar *sustancias con mutagenicidad innata para los humanos (continuación)*

Sustancias ampliamente reconocidas en la literatura como <i>carcinógenos de humanos de tipo mutagénico</i>	CASRN	Criterio (derivados de patrones generales de comportamiento mutagénico y genotóxico)				
		No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5
<i>Benzene</i>	71-43-2	+	+		+	
<i>Benzidine</i>	92-87-5	+	+		+	+
<i>Benzo[a]pyrene</i>	50-32-8	+	+	+	+	+
<i>Bis(chloromethyl) ether</i>	542-88-1	+				
<i>1,3-Butadiene</i>	106-99-0	+		+		
<i>Chloroethylene</i>	75-01-4	+	+		+	+
<i>Chromium (VI) compounds</i>		+	+	+		
<i>Coal-combustion Emissions</i>		+	+	+		+
<i>Coal Tar</i>	8007-45-2	+	+	+		+
<i>Coal-Tar Pitch</i>		+	+	+		+
<i>Coke-Oven Emissions</i>		+	+	+		+
<i>1,2-Dichloropropane</i>	78-87-5		+	+		
<i>Diesel Engine Exhaust</i>		+	+	+		+
<i>Formaldehyde</i>	50-00-0	+	+			+
<i>2-Naphthylamine</i>	91-59-8	+	+		+	+
<i>Sulfur mustard</i>	505-60-2	+	+			
<i>Tobacco Smoke</i>		+	+	+		+
<i>ortho-Toluidine</i>	95-53-4	+	+		+	+
Prevalencia (o frecuencia porcentual) (%)		92% (34)	84% (31)	57% (21)	38% (14)	62% (23)

Nota: Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura. **Entre paréntesis:** el número de *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* con datos de toxicología genética disponibles en la literatura, los cuales son consistentes con uno (o más) de los criterios empleados en esta tesis para identificar la *mutagenicidad innata para los humanos* de las sustancias. Los criterios presentados en esta [Tabla A3](#) fueron definidos (o explicitados) en la [Tabla 6 \(sección 9.3.3\)](#).

Tabla A4. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo *mutagénico*

#	Nombre genérico de la sustancia ▲	CASRN®	Desenlace en RCBs de 1-especie ¥		Desenlace en RCBs de 2-especies ¥	
			RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión • probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)</i>						
1	Acetaldehyde	75-07-0	+			+
2	Aflatoxins	1162-65-8	+	+	+	+
3	Aristolochic Acids	313-67-7; 475-80-9	+	+	+	+
4	Azathioprine	446-86-6	+	+	+	+
5	Betel quid w/o tobacco		+	+	+	+
6	Busulfan	55-98-1		+		+
7	Chlorambucil	305-03-3; 1030-06-4	+	+	+	+
8	Chlornaphazine	494-03-1	+			+
9	Cyclophosphamide	50-18-0; 6055-19-2	+	+	+	+
10	Diethylstilbestrol	56-53-1	+	+	+	+
11	Ethanol	64-17-5	+	+	+	+
12	Formaldehyde		-		-	
13	Melphalan	148-82-3; 3223-07-2	+	+	+	+
14	Methoxsalen plus UVA	298-81-7	+	+	+	+
15	Phenacetin	62-44-2	+	+	+	+
16	Semustine	13909-09-6	+	+	+	+
17	Smokeless Tobacco		+	+	+	+
18	Tamoxifen	10540-29-1	+	+	+	+
19	Thiotepa	52-24-4	+	+	+	+
Positivos al RCB ÷ Total de carcinógenos de humanos			17/18	16/16	15/16	18/18
Sensibilidad = (Positivos al RCB ÷ Total) × 100%			94.4%	100%	93.7%	100%
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación • probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)</i>						
1	4-Aminobiphenyl	92-67-1; 2113-61-3	+	+	+	+

(continúa)

Tabla A4. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo *mutagénico* (continuación)

#	Nombre genérico de la sustancia ▲	CASRN®	Desenlace en RCBs de 1-especie ¥		Desenlace en RCBs de 2-especies ¥	
			RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación • probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)</i>						
2	<i>Benzene</i>	71-43-2	+	+	+	+
3	<i>Benzidine</i>	92-87-5; 531-85-1	+	+	+	+
4	<i>Benzo[a]pyrene</i>	50-32-8	+	+	+	+
5	<i>Bis(chloromethyl) ether</i>	542-88-1	+	+	+	+
6	<i>1,3-Butadiene</i>	106-99-0	+	+	+	+
7	<i>Chloroethylene (Vinyl chloride)</i>	75-01-4	+	+	+	+
8	<i>Calcium chromate</i>	13765-19-0	+	+	+	+
9	<i>Sodium dichromate</i>	7789-12-0	+	+	+	+
10	<i>Chromium trioxide</i>	1333-82-0	+	+	+	+
11	<i>Coal-combustion Emissions</i>		+	+	+	+
12	<i>Coal Tar</i>	8007-45-2	+	+	+	+
13	<i>Coal-Tar Pitch</i>		+	+	+	+
14	<i>Coke-Oven Emissions</i>			+		+
15	<i>1,2-Dichloropropane</i>	78-87-5	+	+	+	+
16	<i>Diesel Engine Exhaust</i>		+	+	+	+
17	<i>Formaldehyde</i>	50-00-0	+	-	-	+
18	<i>2-Naphthylamine</i>	91-59-8	+	+	+	+
19	<i>Sulfur mustard</i>	505-60-2	+			+
20	<i>Tobacco Smoke</i>		+	+	+	+
21	<i>ortho-Toluidine</i>	95-53-4; 636-21-5	+	+	+	+
Positivos al RCB ÷ Total de <i>carcinógenos de humanos</i>			20/20	19/20	18/19	21/21
Sensibilidad = (Positivos ÷ Total) × 100%			100%	95.0%	94.7%	100%

(continúa)

Tabla A4. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo **mutagénico** (continuación)

#	Nombre genérico de la sustancia ▲	CASRN®	Desenlace en RCBs de 1-especie ¥		Desenlace en RCBs de 2-especies ¥	
			RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
<i>Mutágenos carcinogénicos en humanos ya sea por ingestión o inhalación, ensayados en el RCB por vía oral o inhalatoria</i>						
Positivos al RCB ÷ Total de carcinógenos de humanos			37/38	35/36	33/35	39/39
Sensibilidad = (Positivos ÷ Total) × 100%			97.3%	97.2%	94.2%	100%

• La vía (o ruta) de carcinogenicidad de los distintos carcinógenos de humanos se reconoció en esta tesis de acuerdo a lo explicado en la [sección 9.3.3](#); ▲ las sustancias carcinogénicas en humanos se identificaron en esta tesis de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.2](#); ¥ Desenlaces reconocidos de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.3](#); Ω basado en la significativa o sustancial biodisponibilidad oral (o inhalatoria) indicada por los estudios de farmacocinética disponibles en la literatura, la carcinogenicidad de esta sustancia en roedores puede extrapolarse con razonable confianza a la vía oral (o inhalatoria); **Config:** Configuración del RCB ([Figuras 2, 3, y 4](#)). **Positivos:** Sustancias reconocidas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico*, los cuales, a su vez, resultaron positivas (o carcinogénicas) en el RCB. **Total:** Total de sustancias reconocidas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo mutagénico* con resultados disponibles en el RCB. **Nota #1:** Sensibilidad calculada de acuerdo a lo explicado en la [sección 9.3.1](#). **Nota #2:** Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura.

Tabla A5. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo **no-mutagénico**

#	Nombre general del agente químico ▲	Nombre específico de la sustancia en cuestión ▲	CASRN®	RCB de 1-especie ¥		RCB de 2-especies ¥	
				RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión • probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)							
1	<i>Arsenic (III) compounds</i>	<i>Sodium arsenite</i>	7784-46-5	- (p.o.)		-	
2	<i>Arsenic (V) compounds</i>	<i>Sodium arsenate</i>	7631-89-2	- (p.o.)		-	
3	<i>Arsenic (V) compounds</i>	<i>Lead arsenate</i>	7784-40-9	- (p.o.)		-	
4	<i>Asbestos (chrysotile)</i>	<i>Chrysotile</i>	12001-29-5	- (p.o.)		-	
5	<i>Cyclosporin A</i>	<i>Cyclosporin A</i>	59865-13-3		+ (p.o.)		+
6	<i>Diethylstilbestrol</i>	<i>Diethylstilbestrol</i>	56-53-1	+ (p.o.) (s.c.)	+ (p.o.)	+	+
7	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives [# 1]</i>	<i>Estradiol cypionate plus Medroxyprogesterone acetate</i>	313-06-4 plus 71-58-9	+ (s.c.)			+
8	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives [# 2]</i>	<i>Ethinylestradiol plus Norethindrone acetate</i>	57-63-6 plus 51-98-9	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+

(continúa)

Tabla A5. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo **no-mutagénico** (continuación)

#	Nombre general del agente químico ▲	Nombre específico de la sustancia en cuestión ▲	CASRN®	RCB de 1-especie ¥		RCB de 2-especies ¥	
				RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión • probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)							
9	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 3]	<i>Ethinylestradiol plus Megestrol acetate</i>	57-63-6 plus 595-33-5	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
10	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 4]	<i>Ethinylestradiol plus Norgestrel</i>	57-63-6 plus 797-63-7	- (p.o.)	- (p.o.)	-	-
11	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 5]	<i>Ethinylestradiol plus Ethynodiol diacetate</i>	57-63-6 plus 297-76-7	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
12	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 6]	<i>Ethinylestradiol plus Drospirenone</i>	57-63-6 plus 67392-87-4	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
13	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 7]	<i>Mestranol plus Norethynodrel</i>	72-33-3 plus 68-23-5	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
14	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 8]	<i>Mestranol plus Norethindrone</i>	72-33-3 plus 68-22-4	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
15	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 9]	<i>Mestranol plus Lynestrenol</i>	72-33-3 plus 52-76-6	- (p.o.)	- (p.o.)	-	-
16	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 10]	<i>Mestranol plus Ethynodiol diacetate</i>	72-33-3 plus 297-76-7		+ (p.o.)		+
17	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 11]	<i>Mestranol plus Chlormadinone acetate</i>	72-33-3 plus 302-22-7		+ (p.o.)		+
18	<i>Estrogen-plus-Progestin contraceptives</i> [# 12]	<i>Quinestrol plus Quingestanol acetate</i>	152-43-2 plus 3000-39-3	+ (p.o.)			+
19	<i>Steroidal Estrogens</i> [# 1]	<i>Estradiol or its esters</i>	50-28-2	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
20	<i>Steroidal Estrogens</i> [# 2]	<i>Ethinylestradiol</i>	57-63-6	- (p.o.)	+ (p.o.)	-	+
21	<i>Steroidal Estrogens</i> [# 3]	<i>Mestranol</i>	72-33-3	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
22	<i>Tamoxifen</i>	<i>Tamoxifen or its citrate</i>	10540-29-1	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
23	<i>Trichloroethylene</i>	<i>Trichloroethylene</i>	79-01-6	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+

(continúa)

Tabla A5. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo **no-mutagénico** (continuación)

#	Nombre general del agente químico ▲	Nombre específico de la sustancia en cuestión ▲	CASRN®	RCB de 1-especie ¥		RCB de 2-especies ¥	
				RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión • probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)							
Positivos al RCB ÷ Total de carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico				13/20	15/17	11/18	17/19
Sensibilidad = (Positivos ÷ Total) × 100%				65.0%	88.2%	61.1%	89.4%
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación • probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)							
1	Arsenic (III) compounds	Gallium arsenide	1303-00-0	+ (inh.)	- (inh.)	-	+
2	Arsenic (V) compounds	Calcium arsenate	7778-44-1	+ (i.trach)			+
3	Asbestos (actinolite)	Actinolite	77536-67-5	+ (i.p.)			+
4	Asbestos (amosite)	Amosite	12172-73-5	+ (inh.) (i.p.) (i.pl)	+ (s.c.)	+	+
5	Asbestos (anthophyllite)	Anthophyllite	77536-66-4	+ (inh.) (i.pl)			+
6	Asbestos (chrysotile)	Chrysotile	12001-29-5	+ (inh.) (i.p.) (i.pl)			+
7	Asbestos (crocidolite)	Crocidolite	12001-28-4	+ (inh.) (i.p.) (i.pl)	+ (s.c.)	+	+
8	Asbestos (tremolite)	Tremolite	77536-68-6	+ (inh.) (i.p.) (i.pl)			+
9	Beryllium (metallic)	Metallic beryllium	7440-41-7	+ (i.trach)			+
10	Beryllium compounds [# 1]	Beryllium dichloride	7787-47-5	+ (inh.)			+
11	Beryllium compounds [# 2]	Beryllium dihydroxide	13327-32-7	+ (i.trach)			+
12	Beryllium compounds [# 3]	Beryllium monoxide	1304-56-9	+ (inh.) (i.trach)			+
13	Beryllium compounds [# 4]	Beryllium sulfate tetrahydrate	7787-56-6	+ (inh.)			+
14	Cadmium compounds [# 1]	Cadmium dichloride	10108-64-2	+ (inh.) (s.c.)	+ (s.c.)	+	+
15	Cadmium compounds [# 2]	Cadmium monoxide	1306-19-0	+ (inh.)			+
16	Cadmium compounds [# 3]	Cadmium sulfate	10124-36-4	+ (inh.)			+
17	Cadmium compounds [# 4]	Cadmium sulfide	1306-23-6	+ (inh.)			+
18	Silica (crystalline) dust	Crystalline silica		+ (inh.)	+ (s.c.)	+	+

(continúa)

Tabla A5. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo **no-mutagénico** (continuación)

#	Nombre general del agente químico ▲	Nombre específico de la sustancia en cuestión ▲	CASRN®	RCB de 1-especie ¥		RCB de 2-especies ¥	
				RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación • probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)							
19	<i>Erionite</i>	<i>Erionite</i>	66733-21-9	+ (inh.) (i.p.) (i.pl)	+ (i.p.)	+	+
20	<i>Lindane</i>	<i>gamma-HCH, or technical-grade HCH</i>	58-89-9	- (p.o.)	+ (p.o.)	-	+
21	<i>Nickel (metallic)</i>	<i>Elemental nickel</i>	1313-99-1	+ (inh.)			+
22	<i>Nickel compounds</i> [# 1]	<i>Nickel monoxide</i>	1313-99-1	+ (inh.) (i.trach)	+ (inh.)	+	+
23	<i>Nickel compounds</i> [# 2]	<i>Nickel subsulfide</i>	12035-72-2	+ (inh.)	- (inh.)	-	+
24	<i>Nickel compounds</i> [# 3]	<i>Nickel sulfate hexahydrate</i>	10101-97-0	- (inh.)	- (inh.)	-	-
25	<i>Pentachlorophenol</i>	<i>Pentachlorophenol</i>	87-86-5	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
26	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 1]	<i>PCB-118</i>	31508-00-6	+ (p.o.)			+
27	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 2]	<i>PCB-126</i>	57465-28-8	+ (p.o.)			+
28	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 3]	<i>PCB-153</i>	35065-27-1	- (p.o.)		-	
29	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 4]	<i>Aroclor 1016</i>	12674-11-2	+ (p.o.)			+
30	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 5]	<i>Aroclor 1242</i>	53469-21-9	+ (p.o.)			+
31	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 6]	<i>Aroclor 1254</i>	11097-69-1	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
32	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 7]	<i>Aroclor 1260</i>	11096-82-5	+ (p.o.)			+
33	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 8]	<i>Kanechlor 400</i>	12737-87-0	+ (p.o.)			+
34	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> [# 9]	<i>Kanechlor 500</i>	37317-41-2	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
35	<i>Tetrachlorodibenzo-p-dioxin</i>	<i>Tetrachlorodibenzo-p-dioxin</i>	1746-01-6	+ (p.o.)	+ (p.o.)	+	+
36	<i>Trichloroethylene</i>	<i>Trichloroethylene</i>	79-01-6	- (inh.)	+ (inh.)	-	+
Positivos al RCB ÷ Total de carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico				32/36	12/15	10/16	34/35
Sensibilidad = (Positivos ÷ Total) × 100%				88.8%	80.0%	62.5%	97.1%

(continúa)

Tabla A5. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (continuación)

#	Nombre general del agente químico ▲	Nombre específico de la sustancia en cuestión ▲	CASRN®	RCB de 1-especie ¥		RCB de 2-especies ¥	
				RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión o inhalación • probados en el RCB por ya sea por ingestión o inhalación							
Positivos al RCB ÷ Total de <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i>				45/56	27/32	21/34	51/54
Sensibilidad = (Positivos ÷ Total) × 100%				80.3%	84.3%	61.7%	94.4%

• La vía (o ruta) de carcinogenicidad de los distintos *carcinógenos de humanos* se reconoció en esta tesis de acuerdo a lo explicado en la [sección 9.3.3](#); ▲ las sustancias carcinogénicas en humanos se identificaron en esta tesis de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.2](#); ¥ Desenlaces reconocidos de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.3](#); Ω basado en la significativa o sustancial biodisponibilidad oral (o inhalatoria) indicada por los estudios de farmacocinética disponibles en la literatura, la carcinogenicidad de esta sustancia en roedores puede extrapolarse con razonable confianza a la vía oral (o inhalatoria). **Config:** Configuración del RCB ([Figuras 2, 3, y 4](#)); **HCH:** *Hexachlorocyclohexane*; **i.pl:** inyección intrapleural. **Positivos:** Sustancias reconocidas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, los cuales, a su vez, resultaron positivas (o carcinogénicas) en el RCB. **Total:** Total de sustancias reconocidas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* con resultados disponibles en el RCB. **Nota #1:** Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura. **Nota #2:** El significado de las siglas empleadas mas no explicadas en la leyenda de esta [Tabla A5](#) se explican en la leyenda de la [Tabla A1](#). **Nota #3:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [43].

Tabla A6. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (análisis restringido a los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ensayados tanto en el RCB-rata como en el RCB-ratón).

#	Nombre específico del <i>carcinógeno de humanos de tipo no-mutagénicos</i> ▲	CASRN®	Desenlace en RCBs de 1-especie ¥		Desenlace en RCBs de 2-especies ¥	
			RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión • probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)						
1	<i>Diethylstilbestrol</i>	56-53-1	+	+	+	+
2	<i>Ethinylestradiol plus Norethindrone acetate</i>	57-63-6 plus 51-98-9	+	+	+	+
3	<i>Ethinylestradiol plus Megestrol acetate</i>	57-63-6 plus 595-33-5	+	+	+	+
4	<i>Ethinylestradiol plus Norgestrel</i>	57-63-6 plus 797-63-7	-	-	-	-
5	<i>Ethinylestradiol plus Ethynodiol diacetate</i>	57-63-6 plus 297-76-7	+	+	+	+
6	<i>Ethinylestradiol plus Drospirenone</i>	57-63-6 plus 67392-87-4	+	+	+	+
7	<i>Mestranol plus Norethynodrel</i>	72-33-3 plus 68-23-5	+	+	+	+
8	<i>Mestranol plus Norethindrone</i>	72-33-3 plus 68-22-4	+	+	+	+

(continúa)

Tabla A6. (Resultados). Estimación de la sensibilidad del RCB por los carcinógenos de humanos de tipo **no-mutagénico** (análisis restringido a los carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico ensayados tanto en el RCB-rata como en el RCB-ratón). [continuación]

#	Nombre específico del carcinógeno de humanos de tipo no-mutagénicos ▲	CASRN®	Desenlace en RCBs de 1-especie ¥		Desenlace en RCBs de 2-especies ¥	
			RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por ingestión● probados en el RCB por vía oral (o por otras vías extrapolables Ω)						
9	<i>Mestranol plus Lynestrenol</i>	72-33-3 plus 52-76-6	-	-	-	-
10	<i>Estradiol or its esters</i>	50-28-2	+	+	+	+
11	<i>Ethinylestradiol</i>	57-63-6	-	+	-	+
12	<i>Mestranol</i>	72-33-3	+	+	+	+
13	<i>Tamoxifen or its citrate</i>	10540-29-1	+	+	+	+
14	<i>Trichloroethylene</i>	79-01-6	+	+	+	+
No-mutágenos carcinogénicos en humanos por inhalación● probados en el RCB por vía inhalatoria (o por otras vías extrapolables Ω)						
1	<i>Gallium arsenide</i>	1303-00-0	+	-	-	+
2	<i>Amosite</i>	12172-73-5	+	+	+	+
3	<i>Crocidolite</i>	12001-28-4	+	+	+	+
4	<i>Cadmium dichloride</i>	10108-64-2	+	+	+	+
5	<i>Crystalline silica</i>		+	+	+	+
6	<i>Erionite</i>	66733-21-9	+	+	+	+
7	<i>Lindane</i>	58-89-9	-	+	-	+
8	<i>Nickel monoxide</i>	1313-99-1	+	+	+	+
9	<i>Nickel subsulfide</i>	12035-72-2	+	-	-	+
10	<i>Nickel sulfate hexahydrate</i>	10101-97-0	-	-	-	-
11	<i>Pentachlorophenol</i>	87-86-5	+	+	+	+
12	<i>Aroclor 1254</i>	11097-69-1	+	+	+	+
13	<i>Kanechlor 500</i>	37317-41-2	+	+	+	+
14	<i>Tetrachlorodibenzo-p-dioxin</i>	1746-01-6	+	+	+	+
15	<i>Trichloroethylene</i>	79-01-6	-	+	-	+

(continúa)

Tabla A6. (Resultados). Estimación de la *sensibilidad* del RCB por los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* (análisis restringido a los *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* ensayados tanto en el RCB-rata como en el RCB-ratón). [continuación]

#	Nombre específico del <i>carcinógeno de humanos de tipo no-mutagénicos</i> ▲	CASRN®	Desenlace en RCBs de 1-especie ¥		Desenlace en RCBs de 2-especies ¥	
			RCB-rata	RCB-ratón	Config. #1	Config. #2
Positivos al RCB ÷ Total de <i>carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i>			23/29	24/29	21/29	26/29
Sensibilidad = (Positivos ÷ Total) × 100%			79.3%	82.7%	72.4%	89.6%

• La vía (o ruta) de carcinogenicidad de los distintos carcinógenos de humanos se reconoció en esta tesis de acuerdo a lo explicado en la [sección 9.3.3](#); ▲ las sustancias carcinogénicas en humanos se identificaron en esta tesis de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.2](#); ¥ Desenlaces reconocidos de acuerdo a lo expuesto en la [sección 9.3.3](#); Ω basado en la significativa o sustancial biodisponibilidad oral (o inhalatoria) indicada por los estudios de farmacocinética disponibles en la literatura, la carcinogenicidad de esta sustancia en roedores puede extrapolarse con razonable confianza a la vía oral (o inhalatoria). **Positivos:** Sustancias reconocidas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico*, los cuales, a su vez, resultaron positivas (o carcinogénicas) en el RCB. **Total:** Total de sustancias reconocidas en esta tesis como *carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico* con resultados disponibles en el RCB. **Nota #1:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [43].

Tabla A7. Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias identificadas en esta tesis como *carentes de carcinogenicidad sobre los humanos*

#	Nombre genérico del <i>no-carcinógeno de humanos</i>	CASRN®	Características mecanicistas	Identificable como NCH Δ	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
					RCB-rata	Ratón	Config. #1	Config. #2
1	<i>Acacia gum (Arabic gum)</i>	9000-01-5	N-ABS; BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
2	<i>Acesulfame</i>	33665-90-6	N-MET; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
3	<i>Acetylated distarch glycerol</i>	63798-35-6	FS; ECPA; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-	-	-	-
4	<i>Acetylated distarch phosphate</i>	68130-14-3	FS; ECPA; N-MUT; N-GEN; NPN-RAT	Sí	-	-	-	-
5	<i>Adipic acid (and its salts φ)</i>	124-04-9	FS; SM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-	-	-	-
6	<i>Agar</i>	9002-18-0	N-ABS; N-MET; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	No	-	-	-	-
7	<i>Alginic acid (and its salts φ)</i>	9005-38-3	N-ABS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-MIC; NHP-DOG	Sí	-	-	-	-

(continúa)

Tabla A7. Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias *carentes de carcinogenicidad sobre los humanos* (continuación)

#	Nombre genérico del <i>no-carcinógeno de humanos</i>	CASRN®	Características mecanicistas	Identificable como NCH Δ	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
					RCB-rata	Ratón	Config. #1	Config. #2
8	<i>Anoxomer</i>	60837-57-2	NEG-A; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
9	<i>Ascorbic acid (and its salts ϕ)</i>	50-81-7	VIT; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
10	<i>Aspartame</i>	22839-47-0	EMNS; MBPM; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	Sí	-	-	-	-
11	<i>Benzoic acid (and its salts ϕ)</i>	65-85-0	EPHD; EMIC; N-MUT; N-GEN	Sí	-	-	-	-
12	<i>Benzyl acetate</i>	140-11-4	EMIC; IHPM N-MUT; N-GEN; NPN-ROD	Sí	-	-	-	-
13	<i>Benzyl alcohol</i>	100-51-6	EMIC; IHPM N-MUT; N-GEN; NPN-ROD	Sí	-	-	-	-
14	<i>Canthaxanthin</i>	514-78-3	N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG; NHP-MON	No	-	-	-	-
15	<i>Caramel (plain or spirit)</i>	8028-89-5	FS; BCNC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
16	<i>Carboxy methyl cellulose</i>	9004-32-4	N-ABS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-DOG	Sí	-	-	-	-
17	<i>Carob gum (Locust gum)</i>	9000-40-2	N-ABS; IM-NC N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	Sí	-	-	-	-
18	<i>beta-Carotene</i>	7235-40-7	VIT; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	Sí	-	-	-	-
19	<i>Carrageenan (native)</i>	9000-07-1	NEG-A; BCNC; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-MON	Sí	-	-	-	-
20	<i>Citral</i>	5392-40-5	NCF; N-MUT; N-GEN; NPN-ROD	No	-	-	-	-
21	<i>Citric acid (and its salts ϕ)</i>	77-92-9	IHPM; NCF; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-	-	-	-
22	<i>C.I. Food Orange 6</i>	1107-26-2	VIT; NCF; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-	-	-	-

(continúa)

Tabla A7. Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias *carentes de carcinogenicidad sobre los humanos (continuación)*

#	Nombre genérico del <i>no-carcinógeno de humanos</i>	CASRN®	Características mecanicistas	Identificable como NCH Δ	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
					RCB-rata	Ratón	Config. #1	Config. #2
23	<i>Cocoa powder</i>		FS; BCNC; N-MUT; NPN-RAT	Sí	-		-	
24	<i>beta-Cyclodextrin</i>	7585-39-9	BCNC; IM-NC; EMNS; N-MUT; N-GEN; NPH-ROD	Sí	-	-	-	-
25	<i>D&C Yellow No. 10 (C.I. Food Yellow 13)</i>	8004-92-0	N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
26	<i>Diglycerides of fatty acids (Diacylglycerol)</i>		FS; EMNS; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
27	<i>Dimethyl polysiloxane</i>	63148-62-9	N-ABS; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; N-IPAT	No	-	-	-	-
28	<i>Emulsifier YN †</i>	55965-13-4	FS; ECPA; EMNS; N-MUT; N-GEN; NPN-ROD	Sí	- (•)	-	-	-
29	<i>Erythritol</i>	149-32-6	N-MET; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	No	-		-	
30	<i>Erythorbic acid (and its salts ϕ)</i>	89-65-6	VIT; SM-NC; N-MUT; N-GEN	Sí	-	-	-	-
31	<i>Ethyl methyl cellulose</i>	9004-69-7	N-ABS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	Sí	-	-	-	-
32	<i>FD&C Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF)</i>	3844-45-9	NEG-A; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
33	<i>FD&C Blue No. 2 (Indigo Carmine)</i>	860-22-0	NEG-A; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
34	<i>FD&C Red No. 40 (Allura Red AC)</i>	25956-17-6	N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
35	<i>FD&C Yellow No. 5 (Tartrazine)</i>	1934-21-0	N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
36	<i>FD&C Yellow No. 6 (Sunset Yellow FCF)</i>	2783-94-0	N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	No	-	-	-	-
37	<i>Gellan gum</i>	71010-52-1	N-ABS; BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
38	<i>L-Glutamic acid (and its salts ϕ)</i>	56-86-0	AA; IHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	Sí	-	-	-	-

(continúa)

Tabla A7. Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias *carentes de carcinogenicidad sobre los humanos (continuación)*

#	Nombre genérico del <i>no-carcinógeno de humanos</i>	CASRN®	Características mecanicistas	Identificable como NCH Δ	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
					RCB-rata	Ratón	Config. #1	Config. #2
39	<i>Glycerin (Glycerol)</i>	56-81-5	FS; IHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	
40	<i>Guar gum</i>	9000-30-0	N-ABS; BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-DOG	Sí	+ [PIT.a / ADR.p] 5% / 2.5%	-	-	+
41	<i>Hydrogenated starch hydrolysates</i> \blacklozenge		FS; EMNS; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	
42	<i>Hydroxypropyl distarch glycerol</i>		FS; ECPA; N-MUT; N-GEN; NPN-RAT	Sí	-		-	
43	<i>Hydroxypropyl distarch phosphate</i>	53124-00-8	FS; ECPA; N-MUT; N-GEN; NHP-MIC	Sí		-	-	
44	<i>Hydroxypropyl methyl cellulose</i>	9004-65-3	N-ABS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	Sí	-		-	
45	<i>Isomalt</i>	64519-82-0	EMNS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NPN-ROD	Sí	-	-	-	-
46	<i>Lactic acid (and its salts)</i> ϕ	50-21-5	NCF; IHPM; N-MUT; N-GEN; NPN-RAT	Sí	-		-	
47	<i>Lactitol</i>	585-86-4	NEG-A; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NPN-ROD; NHP-DOG	Sí	- (●)	-	-	-
48	<i>Lactose</i>	63-42-3	FS; IM-NC; NHP-ROD	Sí	- (●)	-	-	-
49	<i>Lecithin (soya-bean derived)</i>	8002-43-5	FS; ECPA; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	
50	<i>Lithocholic acid</i>	434-13-9	ECPA; N-MUT; NPN-ROD	Sí	-	-	-	-
51	<i>Maltitol</i>	585-88-6	EMNS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NPN-RAT	Sí	- (●)		-	
52	<i>D-Mannitol</i>	69-65-8	FS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NPN-ROD	Sí	-	-	-	-
53	<i>Methyl cellulose</i>	618-391-7	N-ABS; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	Sí	-		-	

(continúa)

Tabla A7. Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias *carentes de carcinogenicidad sobre los humanos (continuación)*

#	Nombre genérico del no-carcinógeno de humanos	CASRN®	Características mecanicistas	Identificable como NCH Δ	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
					RCB-rata	Ratón	Config. #1	Config. #2
54	Neosugar®	88385-81-3	BCNC; N-MET; IM-NC; N-MUT; NPN-RAT; N-GEN	Sí	+ [PIT.a] 2% ■			+
55	Niacin	59-67-6	VIT; NCF; ECPA	Sí		-	-	
56	Niacinamide	98-92-0	VIT; NCF; ECPA	Sí		-	-	
57	Oleic acid (and its salts ϕ)	121854-29-3	FS; NCF; N-MUT; N-GEN	Sí	+ [PAN.i] 5% ■			+
58	Olestra	121854-29-3	BCNC; NEG-A; N-MET; N-MUT; N-GEN	Sí	-	-	-	-
59	Oxystearin		FS; EMNS; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	Sí	-		-	
60	Phosphated distarch phosphate		FS; ECPA; N-MUT; N-GEN; NPN-RAT	Sí	-		-	
61	Polydextrose	68424-04-4	NEG-A; BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN	Sí	-	-	-	-
62	Polyglycerol esters of fatty acids		BCNC; N-MET; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
63	Polyglycerol polyricinoleate	68936-89-0	FS; BCNC; N-MET; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
64	Polyphosphates		NCF; ECPA; N-MUT; N-GEN; NHP-HUM	Sí	-		-	
65	Polysorbate 80	9005-65-6	EMNS; N-MUT; N-GEN; NPN-ROD; NHP-DOG; NHP-MON	No	-	-	-	-
66	Polyvinylpyrrolidone	9003-39-8	NEG-A; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	No	-		-	
67	Propionic acid (and its salts ϕ)	79-09-4	NCF; IHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	Sí	-		-	
68	Propyl gallate	121-79-9	NCF; IHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
69	Propylene glycol	57-55-6	EMNS; MIHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	

(continúa)

Tabla A7. Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias *carentes de carcinogenicidad sobre los humanos* (continuación)

#	Nombre genérico del <i>no-carcinógeno de humanos</i>	CASRN®	Características mecanicistas	Identificable como NCH Δ	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
					RCB-rata	Ratón	Config. #1	Config. #2
70	<i>all-trans-Retinol</i>	68-26-8	VIT; NCF; N-MUT; N-GEN; NPN-RAT	Sí	+ [ADR.p] 0.25%			+
71	<i>Silicon dioxide (amorphous silica)</i>	7631-86-9	NEG-A; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	No	-	-	-	-
72	<i>Sorbic acid (and its salts φ)</i>	110-44-1	FS; NCF; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
73	<i>D-Sorbitol</i>	50-70-4	FS; NCF; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	Sí	-		-	
74	<i>Starch acetate (Acetylated starch)</i>	9045-28-7	FS; ECPA; N-MUT; N-GEN; NPN-ROD	Sí	-	-	-	-
75	<i>Starch sodium octenyl succinate</i>	66829-29-6	FS; MIHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	
76	<i>Sucroglyceride</i>		EMNS; MIHPM; N-MUT; N-GEN	Sí	-		-	
77	<i>Sucrose</i>	57-50-1	FS; EMNS; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
78	<i>Sucrose acetate isobutyrate</i>	204-771-6	EMNS; MIHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD; NHP-MON	Sí	-	-	-	-
79	<i>S-170 (Ryoto™) §</i>		FS; EMNS; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	
80	<i>S-570 (Ryoto™) §</i>		FS; EMNS; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	
81	<i>Tamarind seed gum</i>	39386-78-2	N-ABS; BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí		-	-	
82	<i>Tara gum</i>	39300-88-4	N-ABS; BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
83	<i>Titanium dioxide (C.I. Pigment White 6)</i>	13463-67-7	N-ABS; N-MUT; N-GEN; N-IPAT; NPN-ROD	No	-	-	-	-
84	<i>alpha-Tocopherol</i>	59-02-9	VIT; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	

(continúa)

Tabla A7. Datos mecanicistas, y desenlaces en el RCB, de las sustancias *carentes de carcinogenicidad sobre los humanos (continuación)*

#	Nombre genérico del <i>no-carcinógeno de humanos</i>	CASRN®	Características mecanicistas	Identificable como NCH Δ	RCB de 1-especie		RCB de 2-especies	
					RCB-rata	Ratón	Config. #1	Config. #2
85	<i>Tragacanth gum</i>	9000-65-1	N-ABS; BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-MIC	Sí		-	-	
86	<i>Triglycerides of fatty acids</i>		FS; EMNS; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
87	<i>Trimethylglycine (Betaine)</i>	107-43-7; 590-47-6	NCF; MIHPM; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT	Sí	-		-	
88	<i>Triphosphate</i>	14127-68-5	NCF; ECPA; N-MUT; N-GEN; NPN-RAT; NHP-HUM	Sí	-		-	
89	<i>L-Tryptophan</i>	73-22-3	AA, IHPM; N-MUT; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
90	<i>Xanthan gum</i>	11138-66-2	BCNC; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-DOG	Sí	-		-	
91	<i>Xylitol</i>	87-99-0	FS; NCF; IM-NC; N-MUT; N-GEN; NHP-ROD	Sí	-	-	-	-
92	<i>D-Xylose</i>	58-86-6	NCF; EMNS; N-MUT; N-GEN; NHP-RAT; NHP-DOG	Sí	-		-	
Negativos al RCB ÷ Total de <i>no-carcinógenos de humanos de tipo no-mutagénico</i>					80/84	57/57	89/89	49/53
Especificidad = (Negativos al RCB ÷ Total de <i>no-carcinógenos de humanos</i>) × 100%					95.2%	100%	100%	92.4%

AA: Aminoácido natural, ya sea natural o fisiológico; **ADR.p:** *Adrenal gland pheochromocytoma*; **BCNC:** Sustancia compuesta por moléculas nutricionales; **ECPA:** Sustancia endógena al y con actividad fisiológica en el cuerpo humano; **EMIC:** Extensivamente metabolizado a sustancias farmacológica y toxicológicamente inertes (p. ej., ácido hipúrico); **EMNS:** Extensivamente metabolizado a sustancias nutricionales; **EPHD:** Ampliamente presente en las dietas naturales humanas; **IHPM:** Intermediario del metabolismo fisiológico humano; **IM-NC:** Sujeto a metabolismo intestinal humano con productos que son de insignificante toxicidad; **KID.tca/tcc:** *Kidney transitional-cell adenoma or carcinoma*; **MBPM:** Metabolizado a subproductos del metabolismo fisiológico humano; **MIHPM:** Completamente metabolizado a intermediarios del metabolismo fisiológico humano; **MTD:** Dosis máxima tolerada [8]; **N-ABS:** Sin absorción oral detectable; **N-IPAT:** en roedores expuestos hasta por 2 años a MTDs de esta sustancia, no se encontró incrementos en la incidencia de lesiones histológicas gastrointestinales; **NCF:** En cantidades significativas y sustantiva frecuencia, esta sustancia es un constituyente de frutas o vegetales comestibles; **N-GEN:** Carencia de genotoxicidad; **N-MET:** No metabolizado tras estar sistémicamente biodisponible; **N-MUT:** Carencia de mutagenicidad; **NEG-A:** Insignificante absorción oral (< 1%); **NHP-HUM:** en estudios clínicos en humanos de duración crónica (≥ 6 meses), no se encontró incremento en la incidencia de lesiones histopatológicas a dosis diarias mayores a la ingesta diaria de la población general; **NHP-DOG:** En bioensayos crónicos (≥ 1 año) conducidos en perros expuestos a MTDs de esta sustancia, no se encontró incremento en la incidencia de lesiones histopatológicas; **NHP-MON:** En bioensayos crónicos (≥ 1 año) conducidos en monos expuestos a MTDs de esta sustancia, no se encontró incremento en la incidencia de lesiones histopatológicas; **PAN.i:** *Pancreas insulinoma*; **PIT.a:** *Pituitary gland adenoma*; **SM-NC:** Sometido en humanos a metabolismo sistémico cuyos productos poseen insignificante toxicidad;

THY.fa: *Thyroid follicular-cell adenoma*; **VIT:** Una vitamina o precursor de vitaminas (provitaminas). **Negativos:** Sustancias identificadas en esta tesis como *no-carcinógenos de humanos* que, a su vez, resultaron negativas (o no-carcinogénicas) en el RCB. **Total:** Total de sustancias identificadas en esta tesis como *no-carcinógenos de humanos* y con resultados disponibles en el RCB. **¢** Sales de sodio, potasio, o calcio; **§** un tipo de éster de sacarosa de ácidos grasos; **†** una mezcla del ácido fosfatídico y triglicéridos; **♦** también conocido como *Hydrogenated glucose syrups*; **Δ** Identificable como *no-carcinogénico para humanos* sin necesidad de recurrir a la ausencia tanto de lesiones histológicas preneoplásicas como de otras lesiones histológicas asociables a las *características claves de los carcinógenos* en pruebas de toxicidad crónica (> 1-año de exposición) en roedores (asunto explicado en la [sección 10.3.2](#)); **•** *Emulsifier YN*: un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de tumores pituitarios (*chromophobe adenoma*) se observó a dosis equivalentes a 6% (p/p) del alimento; **•** *Lactitol*: Un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de tumores testiculares (Leydig-cell tumors) se observó a dosis equivalentes a 10% (p/p) del alimento; **•** *Lactose*: Un incremento estadísticamente significativo en la incidencia de tumores testiculares (*Leydig-cell tumors*) y neoplasmas adrenales (*malignant pheochromocytoma*) se observó a dosis equivalentes a 20% (p/p) del alimento; **•** *Maltitol*: Un incremento estadísticamente significativo de la incidencia de tumores adrenales (*benign pheochromocytoma*) se encontró a dosis equivalentes a 9% (p/p) del alimento; **■** *Neosugar®* resultó negativo a carcinogenicidad en el RCB-rata a dosis equivalentes a 0.8% (p/p) del alimento; **■** *Sodium oleate (una sal del ácido oleico)* fue negativo a carcinogenicidad en el RCB-rata a dosis equivalentes a 2.5% (p/p) del alimento. **Nota #1:** Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura. **Nota #2:** El significado de algunos de los acrónimos empleados en esta tabla (a saber, NHP-RAT; NHP-MIC; NHP-ROD; NPN-RAT; NPN-MIC; NPN-ROD) se explican en la [Tabla A10](#). **Nota #3:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [42,43].

Tabla A8. (Datos). Desenlaces en el RCB, y mecanismos de acción mutagénica, de las sustancias blanco del [objetivo específico #3](#)

#	Nombre genérico de la sustancia	CASRN®	Carcinogénesis en roedores		Mecanismo de acción mutagénica
			RCB-rata (ruta) (histopatología)	RCB-ratón (ruta) (histopatología)	
Drogas (principios activos) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					
1	<i>Amsacrine</i>	51264-14-3	+ (i.v.)		Intercalado en el ADN ¥
2	<i>Bendamustine</i>	3543-75-7		+ (p.o./i.p.)	Aducción covalente al ADN
3	<i>Bleomycin</i>	9041-93-4	+ (s.c.)		Intercalado en el ADN; Unión al surco menor del ADN
4	<i>Carmustine</i>	154-93-8	+ (i.p.)	+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN
5	<i>Chloral hydrate</i>	302-17-0		+ (p.o.)	Aducción covalente al ADN
6	<i>Chlorozotocin</i>	54749-90-5	+ (i.p.)		Aducción covalente al ADN
7	<i>Cisplatin</i>	15663-27-1	+ (i.p.)		Aducción covalente al ADN
8	<i>Cytembena</i>	21739-91-3	+ (i.p.)	EQ (i.p.)	Inhibición de la síntesis de ADN ♦
9	<i>Dacarbazine</i>	4342-03-4	+ (p.o.)	+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN
10	<i>Dactinomycin</i>	50-76-0	+ (i.p./s.c.)	+ (i.p./s.c.)	Intercalado en el ADN ¥

(continúa)

Tabla A8. (Datos). Desenlaces en el RCB, y mecanismos de acción mutagénica, de las sustancias blanco del **objetivo específico #3** (continuación)

#	Nombre genérico de la sustancia	CASRN®	Carcinogénesis en roedores		Mecanismo de acción mutagénica
			RCB-rata (ruta) (histopatología)	RCB-ratón (ruta) (histopatología)	
Drogas (principios activos) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					
11	Danthron	117-10-2	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Intercalado en el ADN ¥
12	Daunorubicin	20830-81-3	+ (i.v.)	+ (s.c.)	Intercalado en el ADN ¥
13	Dexrazoxane; Razoxane	24584-09-6	+ (i.p.) ♣	+ (i.p.) ♣	Inhibición de la topoisomerasa II
14	Doxorubicin	23214-92-8	+ (i.v./s.c.)		Intercalado en el ADN ¥
15	Epirubicin	56390-09-1	+ (i.v./s.c.)		Intercalado en el ADN ¥
16	Hydralazine	86-54-4	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Aducción covalente al ADN
17	Hydroxyurea	127-07-1	+ (i.p.)		Desconocido
18	Ifosfamide	3778-73-2	+ (i.p.)	+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN
19	Irinotecan	97682-44-5	+ (i.v.)		Inhibición de la topoisomerasa I
20	Lomustine	13010-47-4	+ (i.p.)	+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN
21	Mechlorethamine	51-75-2	+ (i.v.)	+ (i.v./s.c.)	Aducción covalente al ADN
22	Mitomycin C	50-07-7	+ (i.p.)	+ (i.v.)	Aducción covalente al ADN
23	Mitoxantrone	65271-80-9	+ (i.v.)	+ (i.v.)	Intercalado en el ADN ¥
24	Oxcarbazepine	28721-07-5	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Unión al ADN de tipo aún no caracterizado
25	Phenazopyridine	94-78-0	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Unión al ADN de tipo aún no caracterizado
26	Phenoxybenzamine	59-96-1	+ (p.o./i.p.)	+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN ¢
27	Procarbazine	366-70-1	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Aducción covalente al ADN
28	Streptozotocin	18883-66-4	+ (i.p./i.v.)	+ (i.p./i.v.)	Aducción covalente al ADN
29	Temozolomide	85622-93-1	+ (p.o.)		Aducción covalente al ADN
30	Triethylenephosphoramidate	545-55-1	+ (p.o.)		Aducción covalente al ADN
31	Triethylenemelamine	51-18-3		+ (i.p.)	Aducción covalente al ADN
32	Triaziquone	68-76-8	+ (i.v.)		Aducción covalente al ADN
33	Trichlormethine	555-77-1	+ (s.c.)		Aducción covalente al ADN
drogas Nitro-aromáticas de 5-miembros (FMNAs) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					

(continúa)

Tabla A8. (Datos). Desenlaces en el RCB, y mecanismos de acción mutagénica, de las sustancias blanco del **objetivo específico #3** (continuación)

#	Nombre genérico de la sustancia	CASRN®	Carcinogénesis en roedores		Mecanismo de acción mutagénica
			RCB-rata (ruta) (histopatología)	RCB-ratón (ruta) (histopatología)	
drogas Nitro-aromáticas de 5-miembros (FMNAs) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					
1	<i>Benznidazole</i>	22994-85-0		+ (i.p.) (<i>ln.lym; sp.lym</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
2	<i>Furazolidone</i>	67-45-8	+ (p.o.) (<i>mg.ac; mg.fa</i>)	+ (p.o.) (<i>ab.ca; ns.ls</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
3	<i>Furylfuramide</i>	3688-53-7	+ (p.o.) (<i>mg.ac; fs.scp; liv.hms</i>)	+ (p.o.) (<i>fs.scp; fs.scc; ab.ad</i>)	Desconocido
4	<i>Metronidazole</i>	443-48-1	+ (p.o.) (<i>ute.amy; mg.fa; liv.hpc</i>)	+ (p.o.) (<i>ns.lym; ab.ad</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
5	<i>Nifurtimox</i>	23256-30-6	+ (p.o.) (<i>mg.fa; mg.ac; ub.tcc</i>)	+ (i.p.) (<i>ln.lym; sp.lym</i>)	Desconocido
6	<i>Nitrofurantoin</i>	67-20-9	+ (p.o.) (<i>mg.fa; kid.tub.ad</i>)	+ (p.o.) (<i>ao.lym; ov.tub.ad</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
Nitro-fenilos con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					
1	<i>1-Chloro-2-nitrobenzene</i>	88-73-3	+ (p.o.) (<i>liv.hpa/hpc</i>)	+ (p.o.) (<i>liv.hpa/hpc; liv.hpb</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
2	<i>1-Chloro-4-nitrobenzene</i>	100-00-5	+ (p.o.) (<i>sp.fi; sp.fs; sp.osts</i>)	+ (p.o.) (<i>ln.lym; liv.hms</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
3	<i>1-Methoxy-2-nitrobenzene (2-Nitroanisole)</i>	91-23-6	+ (p.o.) (<i>mcl; ub.tcc; kid.tcc</i>)	+ (p.o.) (<i>liv.hpa; liv.hpb</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
4	<i>1-Methyl-2,4-dinitrobenzene (2,4-Dinitrotoluene)</i>	121-14-2	+ (p.o.) (<i>liv.hpc; mg.fa; sub.fi</i>)	+ (p.o.) (<i>kid.tub.ad</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
5	<i>2-Methyl-1,3-dinitrobenzene (2,6-Dinitrotoluene)</i>	606-20-2	+ (p.o.) (<i>liv.hpa; liv.hpc</i>)		Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
6	<i>4-Nitrobenzene</i>	98-95-3	+ (inh.) (<i>liv.hpa/hpc; esp; kid.tub.ad</i>)	+ (inh.) (<i>mg.ad; ab.ad/ab.ca; liv.hpa</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
Dióxidos (u otros derivados) de la quinoxalina (drogas) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					
1	<i>Carbadox</i>	6804-07-5	+ (p.o.)		Desconocido

(continúa)

Tabla A8. (Datos). Desenlaces en el RCB, y mecanismos de acción mutagénica, de las sustancias blanco del objetivo específico #3 (continuación)

#	Nombre genérico de la sustancia	CASRN®	Carcinogénesis en roedores		Mecanismo de acción mutagénica
			RCB-rata (ruta) (histopatología)	RCB-ratón (ruta) (histopatología)	
Dióxidos (y otros derivados) de la quinoxalina (drogas) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					
2	<i>Desoxycarbadox</i>	55456-55-8	+ (p.o.)		<i>Desconocido</i>
3	<i>Mequindox</i>	13297-17-1	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
4	<i>Olaquindox</i>	23696-28-8	+ (p.o.)	+ (p.o.)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲
Tri-fenil-metanos (colorantes antimicrobianos) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies					
1	<i>C.I. Basic Red 9 (para-Magenta; para-Fuchsin; para-Rosaniline)</i>	569-61-9	+ (p.o.) (<i>ski.scc, ski.tri, sub.fi, thy.fcc, liv.hpc, ess, zym.ca</i>)	+ (p.o.) (<i>ab.ad/ab.ca, liv.hpc, hag.ad/hag.cya</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲§
2	<i>Leucomalachite Green</i>	129-73-7	EQ (p.o.)	+ (p.o.) (<i>liv.hpa/liv.hpc</i>)	Unión al ADN de tipo caracterizado ▲

ab.ad: alveolar/bronchiolar adenoma (lung); **ab.ca:** alveolar/bronchiolar carcinoma (lung); **ao.hms:** any organ hemangioendothelial sarcoma; **ao.lym:** any organ lymphoma; **cg.ad:** clitoral gland adenoma; **cg.ac:** clitoral gland adenocarcinoma; **ess:** endometrial stromal sarcoma; **esp:** endometrial stromal polyps (uterus); **fs.scp:** forestomach squamous-cell papilloma; **fs.scc:** forestomach squamous-cell carcinoma; **hag.ad/hag.cya:** harderian gland adenomas or cystadenomas; **hs.ii:** hematopoietic system leukemia or lymphoma; **kid.tca:** kidneys transitional-cell adenoma; **kid.tcc:** kidneys transitional-cell carcinoma; **kid.tub.ad:** kidneys tubular-cell adenoma; **kid.tub.ca:** kidneys tubular-cell carcinoma; **liv.hpa:** liver hepatocellular adenoma; **liv.hpc:** liver hepatocellular carcinoma; **liv.hpb:** liver hepatoblastoma; **ln.lym:** lymph node lymphoma; **liv.hms:** liver hemangioendothelial sarcoma; **mg.fa:** mammary gland fibroadenoma; **mg.ac:** mammary gland adenocarcinoma **mcl:** mononuclear-cell leukemia; **ns.lym:** lymphoma (unspecified site); **ns.ls:** lymphosarcoma (unspecified site); **ov.tub.ad:** ovary tubular adenoma; **ov.bn.mix:** ovary benign mixed tumors; **pg.ad:** preputial gland adenoma; **pg.ac:** preputial gland adenocarcinoma; **sp.lym:** spleen lymphoma; **sp.ii:** spleen leukemia or lymphoma; **sp.fi:** spleen fibroma; **sp.fs:** spleen fibrosarcoma; **sp.osts:** spleen osteosarcoma; **sub.fi:** subcutaneous fibroma; **sub.fs:** subcutaneous fibrosarcoma; **ski.scc:** skin squamous-cell carcinoma; **ski.tri:** skin trichoepitheliomas; **thy.fca:** thyroid follicular-cell adenoma; **thy.fcc:** thyroid follicular-cell carcinoma;

ute.ad: uterus adenoma (unspecified tissue); **ute.amy:** uterus adenomyoma; **ub.scc:** urinary bladder squamous-cell carcinoma; **ub.tcp:** urinary bladder transitional-cell papilloma; **ub.tcc:** urinary bladder transitional-cell carcinoma; **zym.ca:** zymbal gland carcinomas. **Nota #1:** Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura. **Nota #2:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [42,43]. ♦ Se desconoce el mecanismo exacto de inhibición de la síntesis de ADN; ¥ acoplado a la inhibición o envenenamiento de topoisomerasas celulares; ▲ corresponde al ensayo (or prueba) del fármaco *razoxane* (ICRF-159, CASNR 21416-67-1), el cual es una mezcla racémica de *dexrazoxane* (ICRF-187, 24584-09-6) y *levrazoxane* (ICRF-186; CASNR 24613-06-7); ▲ Evidencia experimental de (1) aducción al ADN, ya sea covalente u oxidativa, o (2) unión al ADN a través de otros mecanismos asociados a la mutagenicidad (p. ej., intercalado al ADN acoplado a inhibición de topoisomerasas); **EQ:** Desenlace equívoco (los resultados fueron ambiguos, o no pueden ser reconocidos inequívocamente); Δ sitio e histopatología de los tumores; § extrapolado teóricamente desde la conocida capacidad de C.I. Basic Violet 3 (CASRN 548-62-9) y Leucomalachite Green (CASRN 129-73-7) de formar aductos covalentes con el ADN, los cuales (p. ej., C.I. Basic Violet 3) pertenecen a la misma misma clase química (a saber, *tri-fenil-metanos*) y comparten los mismos toxicóforos que C.I. Basic Red 9.

Tabla A9. Datos de toxicología genética de las sustancias blanco del objetivo específico #3

#	Nombre genérico de la sustancia	CASRN®	Mutagénesis		Clastogénesis		Daño al ADN		Criterio ♦
			in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	
Drogas (principios activos) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies									
1	<i>Amsacrine</i>	51264-14-3	+ (Ames, V79, CHO)	- (MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (SCE)	1, 2, 4, 5
2	<i>Bendamustine</i>	3543-75-7	+ (Ames)		+ (CA)	+ (MN)	+ (SCE)		2
3	<i>Bleomycin</i>	9041-93-4	+ (Ames)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (COMET)	1, 2, 4
4	<i>Carmustine</i>	154-93-8	+ (Ames, V79)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (COMET)	+ (SCE)	1, 2, 4, 5
5	<i>Chloral hydrate</i>	302-17-0	+ (Ames)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE, COMET)	+ (COMET)	1, 2, 4
6	<i>Chlorozotocin</i>	54749-90-5	+ (Ames; V79)				+ (SCE; COMET)	+ (COMET)	2, 5
7	<i>Cisplatin</i>	15663-27-1	+ (Ames)	+ (MM)	+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (COMET)	1, 2, 3, 4
8	<i>Cytembena</i>	21739-91-3	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)		1, 2
9	<i>Dacarbazine</i>	4342-03-4	+ (Ames, CHO)		+ (MLA)	+ (MN, CA, DLM)			1, 4, 5
10	<i>Dactinomycin</i>	50-76-0	+ (CHO)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN)	+ (SCE)	+ (SCE)	1, 2
11	<i>Danthron</i>	117-10-2	+ (Ames)		+ (MLA, MN, CA)	- (MN)	+ (COMET)	+ (COMET)	2
12	<i>Daunorubicin</i>	20830-81-3	+ (Ames, V79)		+ (MLA, CA)	+ (MN, CA)			1, 2, 5
13	<i>Dexrazoxane</i>	24584-09-6			+ (CA, MLA)	+ (MN)			1, 2
	<i>Razoxane</i>	21416-67-1	+ (V79)			+ (MN, CA)	+ (UDS)		
14	<i>Doxorubicin</i>	23214-92-8	+ (Ames, V79, CHO)		+ (MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (SCE)	1, 2, 4, 5
15	<i>Epirubicin</i>	56390-09-1	+ (Ames, V79)		+ (CA)	+ (MN, CA)			1, 5
16	<i>Hydralazine</i>	86-54-4	+ (Ames, V79)			+ (MN)		+ (SCE)	1, 5
17	<i>Hydroxyurea</i>	127-07-1	+ (Ames)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (COMET, SCE)	1, 2, 4
18	<i>Ifosfamide</i>	3778-73-2	+ (Ames)		+ (MLA)	+ (MN, DLM)			1
19	<i>Irinotecan</i>	97682-44-5	- (Ames)		+ (CA)	+ (MN, CA)	+ (COMET; SCE)	+ (COMET)	1, 2, 4

(continúa)

Tabla A9. Datos de toxicología genética de las sustancias blanco del **objetivo específico #3** (continuación)

#	Nombre genérico de la sustancia	CASRN®	Mutagénesis		Clastogénesis		Daño al ADN		Criterio ♦
			in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	
Drogas (principios activos) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies									
20	Lomustine	13010-47-4	+ (Ames, V79, CHO)		+ (CA)	+ (DLM)	+ (SCE)	+ (COMET)	1, 2, 5
21	Mechlorethamine	51-75-2	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN, DLM)	+ (COMET)		1, 2
22	Mitomycin C	50-07-7	+ (Ames)		+ (MLA, MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (COMET)	1, 2, 4
23	Mitoxantrone	65271-80-9	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN)	+ (COMET, SCE)		2
24	Oxcarbazepine	28721-07-5	+ (Ames) / - (V79)		+ (MN; CA)	- (MN)	+ (SCE)	+ (COMET)	2
25	Phenazopyridine	94-78-0	+ (Ames)		+ (CA, MLA)	+ (MN)		+ (COMET)	1, 2
26	Phenoxybenzamine	59-96-1	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN)	+ (SCE)		2
27	Procarbazine	366-70-1	+ (V79, CHO)	+ (MM)	+ (MLA)	+ (MLA, MN, CA)	+ (SCE)	+ (SCE)	1, 2, 3, 4, 5
28	Streptozotocin	18883-66-4	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN)	+ (SCE)	+ (COMET)	1, 2
29	Temozolomide	85622-93-1	+ (Ames)	+ (Pig-A)		+ (MN)		+ (COMET)	1, 3
30	TEPA	545-55-1	+ (Ames)		+ (CA)	+ (CA, DLM)	+ (SCE)		1, 2
31	Triethylenemelamine	51-18-3	+ (Ames, V79)		+ (MN, CA)	+ (MN, CA)		+ (SCE)	1, 2, 4, 5
32	Triaziquone	68-76-8	+ (Ames)		+ (MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)		1, 2
33	Trichlormethine	555-77-1	+ (V79)			+ (CA; DLM)			1
drogas Nitro-aromáticas de 5-miembros (FMNAs) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies									
1	Benznidazole	22994-85-0	+ (Ames)		+ (MN, CA)	+ (MN, CA)		- (SCE)	1, 2
2	Furazolidone	67-45-8	+ (Ames, CHO)		+ (CA)	+ (MN)	+ (SCE)	+ (SCE)	1, 2, 5
3	Furylfuramide	3688-53-7	+ (Ames, V79)		+ (MLA)	+ (MN, CA)			1, 5
4	Metronidazole	443-48-1	+ (Ames)		+ (MN, CA)	+ (MN, CA)	+ (SCE)	+ (COMET)	1, 2, 4
5	Nifurtimox	23256-30-6	+ (Ames)		+ (MN)	+ (MN, CA)		+ (SCE)	1, 4
6	Nitrofurantoin	67-20-9	+ (Ames, CHO)	+ (Gpt-delta-Rat)	+ (MLA, CA)		+ (SCE, COMET)	+ (SCE, COMET)	1, 2, 3, 5

(continúa)

Tabla A9. Datos de toxicología genética de las sustancias blanco del **objetivo específico #3** (*continuación*)

#	Nombre genérico de la sustancia	CASRN®	Mutagénesis		Clastogénesis		Daño al ADN		Criterio ♦
			in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	
Nitro-fenilos con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies									
1	1-Chloro-2-nitrobenzene	88-73-3	+ (Ames)		+ (CA)	- (MN)	+ (SCE)	+ (COMET)	2
2	1-Chloro-4-nitrobenzene	100-00-5	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN)	+ (SCE)	+ (COMET)	1, 2
3	1-Methoxy-2-nitrobenzene	91-23-6	+ (Ames)		+ (MLA)		+ (SCE)	+ (COMET)	2
4	1-Methyl-2,4-dinitrobenzene (2,4-Dinitrotoluene)	121-14-2	+ (Ames) / - (CHO)		+ (MLA) / - (CA)	+ (MN) / - (DLM)	- (UDS, SCE)	+ (UDS, SCE) / - (COMET)	1, 4
5	2-Methyl-1,3-dinitrobenzene (2,6-Dinitrotoluene)	606-20-2	+ (Ames)			+ (MN)		+ (COMET, UDS)	1, 4
6	4-Nitrobenzene	98-95-3	+ (V79) / - (Ames)		+ (MN)	+ (MN)		+ (COMET)	1
Dióxidos (u otros derivados) de la quinoxalina (drogas) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies									
1	Carbadox	6804-07-5	+ (Ames)		+ (MLA, CA)	+ (MN, CA)	+ (COMET)		1, 2
2	Desoxycarbadox	55456-55-8	+ (Ames)			+ (CA, MN)			1
3	Mequindox	13297-17-1	+ (Ames, V79)		+ (CA)	+ (MN)	+ (UDS)	+ (gamma-H2AX)	1, 2, 5
4	Olaquindox	23696-28-8	+ (Ames; V79)			+ (MN; CA; DLM)	+ (COMET, SCE)		1, 2, 5
Tri-fenil-metanos (colorantes antimicrobianos) con suficiente evidencia de toxicología genética para ser considerados como mutágenos trans-especies									
1	C.I. Basic Red 9 (para-Magenta)	569-61-9	+ (Ames)		+ (MLA) / - (CA)	- (MN)	+ (UDS)	+ (COMET)	2
2	Leucomalachite Green	129-73-7	- (CHO)	+ (BBM, BBR)	- (CA)	+ (MN)	- (COMET)		5

♦ Combinación de datos de genotoxicidad que, de acuerdo a lo validado por medio de la [Tabla A3](#) y [Tabla 6](#) (sección 9.3.3), se usó en esta tesis para identificar a las sustancias mutagénicas para los humanos (es decir, a los *mutágenos trans-especies*). **Nota #1:** El significado de las siglas empleadas mas no explicadas en (la leyenda de) esta [Tabla A9](#) puede

encontrarse en la leyenda de la [Tabla A2](#). **Nota #2:** Las celdas en blanco correspondieron a una ausencia de datos disponibles en la literatura. **Nota #3:** Las referencias de los datos compilados en esta tabla están disponibles en el material suplementario de Suarez-Torres y col. [42,43].

Tabla A10. (Datos). Desenlaces en el RCB, datos de histopatología, y datos de genotoxicidad de las sustancias blanco del **objetivo específico #4**

#	Sustancia	CASRN (u otros IDs Ω)	Desenlace en el RCB		Lesiones histológicas ▲	Ausencia de genotoxicidad Δ
			RCB-rata Δ	RCB-ratón Δ		
Colorantes autorizados en varios países para uso en alimentos, medicamentos, y/o cosméticos						
1	<i>Amaranth</i>	915-67-3	– (Amaranth)	– (Amaranth)	NPN-ROD	– (Ames, V-MN, DLM) / + (V-COMET) [Amaranth]
	<i>Amaranth, Aluminum Lake</i>	12227-62-2				
2	<i>Azorubine</i>	3567-69-9	– (Azorubine)	– (Azorubine)	NPN-ROD	– (Ames, MLA, IV-SCE, IV-CA, V-CA) [Azorubine]
	<i>Azorubine, Aluminum Lake</i>	84238-07-3				
3	<i>Brown HT</i>	4553-89-3	– (Brown HT)	– (Brown HT)	NPN-ROD	– (Ames, <i>E. coli</i>) (Brown HT)
4	<i>Carminic acid</i>	1260-17-9	– (Carmine)	– (Cochineal extract)	NPN-ROD	– (Ames, IV-SCE, IV-CA, IV-MN, V-MN) [Carminic acid]
5	<i>Carmine</i>	1390-65-4				
6	<i>D&C Yellow No. 10</i>	8004-92-0	– (D&C Yellow No. 10)	– (D&C Yellow No. 10)	NHP-ROD	– (Ames, MLA, V-MN) / + (IV-COMET, IV-MN) [D&C Yellow No. 10]
	<i>D&C Yellow No. 10 Aluminum Lake</i>	68814-04-0				
7	<i>FD&C Blue No. 1</i>	3844-45-9	– (FD&C Blue No. 1)	– (FD&C Blue No. 1)	NHP-ROD	– (Ames, V-MN, V-COMET) [FD&C Blue No. 1]
	<i>FD&C Blue No. 1 Aluminum Lake</i>	68921-42-6				
8	<i>FD&C Blue No. 2</i>	860-22-0	– (FD&C Blue No. 2)	– (FD&C Blue No. 2)	NHP-ROD	– (Ames, IV-COMET, V-CA, V-COMET, V-MN) [FD&C Blue No. 2]
	<i>FD&C Blue No. 2 Aluminum Lake</i>	16521-38-3				
9	<i>FD&C Green No. 3</i>	2353-45-9	– (FD&C Green No. 3)	– (FD&C Green No. 3)	NHP-ROD	– (Ames, IV-CA, V-COMET, V-MN) [FD&C Green No. 3]
	<i>FD&C Green No. 3 Aluminum Lake</i>	C.I. 42053:1 ♦				
10	<i>FD&C Red No. 40</i>	25956-17-6	– (FD&C Red No. 40)	– (FD&C Red No. 40)	NHP-ROD	– (Ames, V-MN, MutaMouse) [FD&C Red No. 40]
	<i>FD&C Red No. 40 Aluminum Lake</i>	68583-95-9				
Colorantes autorizados en varios países para uso en alimentos, medicamentos, y/o cosméticos						

(continúa)

Tabla A10. (Datos). Desenlaces en el RCB, datos de histopatología, y datos de genotoxicidad de las sustancias blanco del **objetivo específico #4** (continuación)

#	Sustancia	CASRN (u otros iDs Ω)	Desenlace en el RCB		Lesiones histológicas \blacktriangle	Ausencia de genotoxicidad Δ
			RCB-rata Δ	RCB-ratón Δ		
11	FD&C Yellow No. 5 (Tartrazine)	1934-21-0	- (FD&C Yellow No. 5)	- (FD&C Yellow No. 5)	NHP-ROD	- (Ames, MLA, IV-SCE, V-CA, V-MN) / + (IV-COMET, V-COMET) [FD&C Yellow No. 5]
	FD&C Yellow No. 5 Aluminum Lake (Tartrazine's Lake)	12225-21-7				
12	FD&C Yellow No. 6	2783-94-0	- (FD&C Yellow No. 6)	- (FD&C Yellow No. 6)	NHP-ROD	- (Ames, V-MN, V-CA, V-COMET) [FD&C Yellow No. 6]
	FD&C Yellow No. 6 Aluminum Lake	15790-07-5				
13	Patent Blue V, Calcium Salt	3536-49-0	- (Patent Blue V, either calcium or sodium salt)	- (Patent Blue V, either calcium or sodium salt)	NHP-ROD	- (MLA, V-MN, V-COMET) [Patent Blue V]
	Patent Blue V, Sodium Salt	20262-76-4				
	Patent Blue V, Aluminum Lake	86510-75-0				
14	Patent Blue VF, Sodium Salt	129-17-9				
15	Ponceau 4R	2611-82-7	- (Ponceau 4R)	- (Ponceau 4R)	NPN-ROD	- (Ames, MLA, V-MN) / + (IV-CA, V-COMET) [Ponceau 4R]
	Ponceau 4R Aluminum Lake	12227-64-4				
Fármacos (drogas aprobadas por la autoridad sanitaria) antimicrobianos de la medicina humana o veterinaria						
1	Abamectin	71751-41-2	- (Abamectin)	- (Abamectin)	NHP-ROD	- (Ames, V79, MLA, IV-CA, V-CA) [Abamectin]
2	Avermectin B1a	65195-55-3				
3	Avermectin B1b	65195-56-4				
4	Apramycin	37321-09-8	- (Apramycin)	- (Apramycin)	NPN-ROD	- (Ames, <i>E. coli</i> , MLA, IV-UDS) [Apramycin]
5	Avilamycin	11051-71-1	- (Avilamycin)	- (Avilamycin)	NHP-ROD	- (Ames, MLA, IV-CA, V-MN, V-SCE) [Avilamycin]
6	Chlortetracycline	57-62-5	- (Chlortetracycline)		NHP-RAT	- (Ames, CHO, V-CA) [Chlortetracycline]
7	Ciprofloxacin	85721-33-1	- (Ciprofloxacin)	- (Ciprofloxacin)	NPN-ROD (Enrofloxacin)	- (Ames, V79, DLM, V-MN) / + (MLA) [Ciprofloxacin]
8	Danofloxacin	112398-08-0	- (Danofloxacin)	- (Danofloxacin)	NHP-ROD	- (Ames, CHO, MLA, V-MN) / + (IV-CA) [Danofloxacin]

(continúa)

Tabla A10. (Datos). Desenlaces en el RCB, datos de histopatología, y datos de genotoxicidad de las sustancias blanco del **objetivo específico #4 (continuación)**

#	Sustancia	CASRN (u otros iDs Ω)	Desenlace en el RCB		Lesiones histológicas \blacktriangle	Ausencia de genotoxicidad Δ
			RCB-rata Δ	RCB-ratón Δ		
Fármacos (drogas aprobadas por la autoridad sanitaria) antimicrobianos de la medicina humana o veterinaria						
9	<i>Doramectin</i>	117704-25-3	- (Abamectin)	- (Abamectin)	NHP-ROD (Abamectin)	- (Ames, MLA, IV-UDS, V-MN) [Doramectin]
10	<i>Emamectin</i>	119791-41-2	- (Emamectin)	- (Emamectin)	NPN-ROD	- (Ames, V79, IV-CA, V-CA) / + (IV-COMET) [Emamectin]
11	<i>Emamectin B1a</i>	11549937 Ω				
12	<i>Emamectin B1b</i>	15279960 Ω				
13	<i>Enrofloxacin</i>	93106-60-6	- (Enrofloxacin)	- (Enrofloxacin)	NPN-ROD	- (IV-UDS, V-CA, V-MN, V-SCE) / + (IV-CA) [Enrofloxacin]
14	<i>Eprinomectin</i>	123997-26-2	- (Emamectin)	- (Emamectin)	NPN-ROD (Emamectin)	- (Ames, V79, IV-CA, IV-COMET, V-MN) [Eprinomectin]
15	<i>Eprinomectin B1a</i>	133305-88-1				
16	<i>Eprinomectin B1b</i>	133305-89-2				
17	<i>Erythromycin</i>	114-07-8	- (Erythromycin)	- (Erythromycin)	NPN-ROD	- (Ames, IV-CA, IV-SCE) [Erythromycin]
18	<i>Ivermectin</i>	70288-86-7	- (Abamectin)	- (Abamectin)	NHP-ROD	- (Ames, MLA, IV-UDS) [Ivermectin]
19	<i>Ivermectin B1a</i>	71827-03-7				
20	<i>Ivermectin B1b</i>	70209-81-3				
21	<i>Milbemyacin oxime</i>	129496-10-2	- (Milbemectin)	- (Milbemectin)	NHP-ROD	- (Ames, MLA, IV-CA, V-MN) [Milbemectin]
22	<i>Milbemyacin A3 5-oxime</i>	91617476 Ω				
23	<i>Milbemyacin A4 5-oxime</i>	91617829 Ω				
24	<i>Moxidectin</i>	113507-06-5	- (Moxidectin)	- (Moxidectin)	NPH-ROD	- (Ames, V79, CHO, IV-CA, V-MN, V-UDS) [Moxidectin]
25	<i>Natamycin (Pimaricin)</i>	7681-93-8	- (Natamycin)		NPH-RAT	- (Ames, MLA, IV-CA, V-CA) [Natamycin]
26	<i>Nemadectin</i>	6436124 Ω	- (Moxidectin)	- (Moxidectin)	NPH-ROD	- (Ames, V79, CHO, IV-CA, V-MN, V-UDS) [Moxidectin]
27	<i>Neomycin</i>	66-86-4	- (Neomycin)		NPH-RAT	- (Ames, CHO, V-CA) [Neomycin]

(continúa)

Tabla A10. (Datos). Desenlaces en el RCB, datos de histopatología, y datos de genotoxicidad de las sustancias blanco del **objetivo específico #4 (continuación)**

#	Sustancia	CASRN (u otros iDs Ω)	Desenlace en el RCB		Lesiones histológicas ▲	Ausencia de genotoxicidad Δ
			RCB-rata Δ	RCB-ratón Δ		
Fármacos (drogas aprobadas por la autoridad sanitaria) antimicrobianos de la medicina humana o veterinaria						
28	<i>Neomycin B (Framycetin)</i>	119-04-0	- (Neomycin)		NPH-RAT	- (Ames, CHO, V-CA) [Neomycin]
29	<i>Oxytetracycline</i>	79-57-2	- (Oxytetracycline)	- (Oxytetracycline)	NHP-ROD	- (Ames, IV-SCE, IV-CA) / + (MLA) [Oxytetracycline]
30	<i>Spinosad</i>	168316-95-8	- (Spinosad)	- (Spinosad)	NPN-ROD	- (Ames, MLA, V79, IV-CA, V-MN) [Spinosad]
31	<i>Spinosyn A</i>	131929-60-7				
32	<i>Spinosyn D</i>	131929-63-0				
33	<i>Spiramycin</i>	8025-81-8	- (Spiramycin)		NPH-RAT	- (CHO, IV-CA, V-MN) [Spiramycin]
34	<i>Tetracycline</i>	60-54-8	- (Tetracycline)	- (Tetracycline)	FAH (RCB-rata) / NHP-MIC	- (Ames, MLA, IV-SCE, IV-CA) [Tetracycline]
35	<i>Thiamphenicol</i>	15318-45-3	- (Thiamphenicol)		NPH-RAT	- (Ames, V79, IV-CA, V-MN) [Thiamphenicol]
	<i>Thiamphenicol glycinate</i>	2393-92-2				
Principios activos de productos pesticidas (no excluye el que algunas de estas drogas también hagan parte de medicamentos de la medicina veterinaria)						
1	<i>Bioresmethrin</i>	28434-01-7	- (Bioresmethrin)		NHP-ROD	- (Ames, V79, IV-CA, IV-COMET, V-MN) [Bioresmethrin]
2	<i>Bifenthrin</i>	82657-04-3	- (Bifenthrin)	- (Bifenthrin)	NPN-ROD	- (Ames, MLA, CHO, V-MN, V-CA) [Bifenthrin]
3	<i>Cyfluthrin</i>	68359-37-5	- (Cyfluthrin)	- (Cyfluthrin)	NHP-ROD	- (Ames, CHO, IV-CA, V-MN, DLM) [Cyfluthrin]
4	<i>beta-Cyfluthrin</i>	86560-94-3	- (Cyfluthrin)	- (Cyfluthrin)	NHP-ROD	- (Ames, CHO, IV-CA, V-MN) [beta-Cyfluthrin]
5	<i>Cyhalothrin</i>	68085-85-8	- (Cyhalothrin)	- (Cyhalothrin)	NHP-ROD	- (Ames, V-CA, DLM) [Cyhalothrin]
6	<i>lambda-Cyhalothrin</i>	91465-08-6	- (Cyhalothrin)	- (Cyhalothrin)	NHP-ROD	- (Ames, MLA, IV-CA, IV-MN) [lambda-Cyhalothrin]
7	<i>Cypermethrin</i>	52315-07-8	- (Cypermethrin)	- (Cypermethrin)	NHP-ROD	- (Ames, <i>E. coli</i> , IV-CA, V-CA, V-COMET, DLM) [Cypermethrin]

(continúa)

Tabla A10. (Datos). Desenlaces en el RCB, datos de histopatología, y datos de genotoxicidad de las sustancias blanco del **objetivo específico #4 (continuación)**

#	Sustancia	CASRN (u otros iDs Ω)	Desenlace en el RCB		Lesiones histológicas ▲	Ausencia de genotoxicidad Δ
			RCB-rata Δ	RCB-ratón Δ		
Principios activos de productos pesticidas (no excluye el que algunas de estas drogas también hagan parte de medicamentos de la medicina veterinaria)						
8	<i>alpha-Cypermethrin</i>	67375-30-8		– (alpha-Cypermethrin)	NHP-ROD	– (Ames, MLA, IV-CA, V-CA, V-MN, V-COMET) [alpha-Cypermethrin]
9	<i>Deltamethrin</i>	52918-63-5	– (Deltamethrin)	– (Deltamethrin)	NHP-ROD	– (Ames, V79, IV-CA, IV-MN, V-CA, DLM) [Deltamethrin]
10	<i>Ethofenprox</i>	80844-07-1	– (Ethofenprox)	– (Ethofenprox)	NPN-ROD	– (Ames, V79, IV-CA, V-MN) [Ethofenprox]
11	<i>Fenvalerate</i>	51630-58-1	– (Fenvalerate)	– (Fenvalerate)	NPN-ROD	– (Ames, IV-CA, IV-UDS) [Fenvalerate]
12	<i>Esfenvalerate</i>	66230-04-4		– (Esfenvalerate)	NPN-ROD	– (Ames, V79, IV-CA, V-MN) [Esfenvalerate]
13	<i>Flumethrin</i>	69770-45-2	– (Flumethrin)		NHP-RAT	– (Ames, MLA, V79, IV-CA, V-MN) [Flumethrin]
14	<i>Milbemectin</i>	ANR				
15	<i>Milbemycin A3</i>	51596-10-2	– (Milbemectin)	– (Milbemectin)	NHP-ROD	– (Ames, MLA, IV-CA, V-MN) [Milbemectin]
16	<i>Milbemycin A4</i>	51596-11-3				
17	<i>Permethrin</i>	52645-53-1	– (Permethrin)	– (Permethrin)	NPN-ROD	– (Ames, MLA, V79, DLM) / + (IV-CA, IV-MN, IV-SCE) [Permethrin]
18	<i>Resmethrin</i>	10453-86-8	– (Resmethrin)	– (Resmethrin)	NHP-ROD	– (Ames, V79, IV-CA, IV-COMET, V-MN) [Resmethrin]

ANR: De acuerdo al sitio de internet *CAS Common Chemistry*, esta sustancia no estaría registrada en el CAS de la ACS; **FAH:** Foco de alteración (basofílica) hepatocelular. **IV-CA:** aberraciones cromosómicas en células de roedores o humanas (in vitro); **IV-COMET:** bioensayos in vitro de daño al o rotura del ADN; **IV-MN:** Prueba de micronúcleos in vitro (con células de roedores o humanas); **IV-SCE:** bioensayo in vitro (con células de roedores o humanas) conocido como Intercambios entre Cromátidas Hermanas; **IV-UDS:** bioensayo in vitro (con células de roedores o humanas) conocido como Síntesis de ADN No-programada; **MutaMouse:** *MutaMouse* (locus: lacZ); **V-CA:** aberraciones cromosómicas en roedores expuestos a la sustancia de prueba (in vivo); **V-COMET:** bioensayos in vivo de daño al ADN o de rotura del ADN; **V-MN:** Prueba de micronúcleos en roedores expuestos a la sustancia de prueba (in vivo); **V-SCE:** bioensayo in vivo (en roedores expuestos a la sustancia de prueba) conocido como Intercambios entre Cromátidas Hermanas; **V-UDS:** bioensayo in vivo (en roedores tratados con la sustancia de prueba) conocido como Síntesis de ADN No-programada; **ND:** Sin datos disponibles en la literatura; Δ Entre paréntesis (o corchetes) se especifica la *sustancia de prueba* ensayada en el RCB o en las respectivas pruebas de genotoxicidad. En algunos casos, la sustancia ensayada en el RCB (o en las pruebas de genotoxicidad) fue distinta a la sustancia a la que se estimó su *valor predictivo negativo* (p. ej., el caso Nemalectina, cuyo *valor predictivo negativo* se basó en los datos de Moxidectina).

En tales casos, la [sección 13.5.1](#) discutió el fundamento específico por el cual extrapolar los datos de una determinada sustancia a otra (p. ej., el fundamento por el cual extrapolar los datos de la Moxidectina a la Nemadectina); ▲ De acuerdo a los resultados de las pruebas estadísticas pertinentes, la columna “lesiones histológicas” reporta los posibles cambios en la incidencia de lesiones histopatológicas específicas (p. ej., no-neoplásicas, pre-neoplásicas; en RCBs) que son atribuibles al tratamiento con la sustancia de prueba; Ω **PubChem CID**: Número de identificación en PubChem (*U.S. National Library of Medicine*); notablemente, las sustancias identificadas en esta tabla con PubChem CID no se encuentran registradas en el *Chemical Abstract Service (CAS)* de la *American Chemical Society (ACS)*, según el sitio de internet titulado *CAS Common Chemistry*; ♦ Número de registro en el Colour Index™. **Nota #1**: El significado de las siglas empleadas mas no explicadas en la leyenda de esta [Tabla A10](#) puede encontrarse en la leyenda de la [Tabla A2](#). **Nota #2**: Las celdas en blanco correspondieron con una ausencia de datos disponibles en la literatura.