

# Ensayos mecanísticos de disrupción endocrina: por qué ganan peso en regulación de químicos, cosméticos, fármacos y fitosanitarios

Los ensayos de disrupción endocrina se utilizan para identificar si una sustancia química puede interferir con el sistema hormonal (endocrino) de humanos o animales. La evaluación de la disrupción endocrina está evolucionando hacia modelos por capas “*tiers*” más integrados. Ensayos mecanísticos como los *Level 3* de la OCDE, y en particular EASZY, están empezando a ocupar una posición estratégica al aportar información *in vivo* sobre mecanismos endocrinos en organismos completos, con un formato más próximo al *screening* y una utilidad creciente dentro del *Weight of Evidence* regulatorio.

EQUIPO DE DESARROLLO DE NEGOCIO DE BIAT GROUP

**La evaluación de la posible disrupción endocrina en ingredientes cosméticos, entre otros, está entrando en una fase de madurez técnica** en la que ya no basta con contraponer *in vitro* frente a *in vivo*, ni con buscar un único ensayo que resuelva por sí solo la incertidumbre. El verdadero cambio de paradigma está en la aparición y consolidación de ensayos mecanísticos *Level 3* del marco conceptual de la OCDE, capaces de aportar datos *in vivo* sobre mecanismos endocrinos concretos en organismos completos, pero con una productividad y una lógica experimental mucho más próximas a los métodos de cribado que a los estudios regulatorios clásicos<sup>[1]</sup>.

La propia OCDE sitúa en *Level 3* a los ensayos *in vivo* que aportan información sobre mecanismos o vías endocrinas seleccionadas, e incluye

expresamente el EASZY (OECD TG 250), RADAR (OECD TG 251), REACTIV (OECD TG 252) y XETA (OECD TG 248) en ese nivel. En ese contexto, el EASZY (*Endocrine Active Substances, acting through estrogen receptors, using transgenic tg(cyp19a1b:GFP) Zebrafish embryos*) merece una atención especial por parte de la industria cosmética.

La guía de ensayo de la OCDE define el EASZY como un ensayo mecanístico de cribado *in vivo* diseñado para detectar sustancias con actividad endocrina agonista a través de los receptores de estrógeno, usando embriones transgénicos de pez cebra expuestos durante 96 horas en fases embrionarias y cuantificando la fluorescencia GFP inducida por el promotor *cyp19a1b*<sup>[2]</sup>. En otras palabras, no se limita a observar un efecto tardío o inespecífico, sino que

captura directamente un *Molecular Initiating Event* (MIE) relevante del eje estrogénico en un organismo.

Este punto es crucial; ya que, durante años, la discusión regulatoria sobre disruptores endocrinos se ha polarizado entre, por un lado, ensayos *in vitro* muy eficientes pero criticados por su limitada integración biológica y, por otro, estudios *in vivo* más integradores, pero largos, costosos y difícilmente compatibles con las restricciones del sector cosmético. Los ensayos mecanísticos *Level 3* permiten detectar el MIE en un organismo completo, con barreras de absorción, distribución tisular, metabolismo temprano e interacción entre tejidos todavía presentes, algo que un sistema celular no reproduce. Al mismo tiempo, mantienen un formato experimental relativamente ágil, de

## ‘EL EASZY NO SE LIMITA A OBSERVAR UN EFECTO TARDÍO O INESPECÍFICO, SINO QUE CAPTURA DIRECTAMENTE UN *MOLECULAR INITIATING EVENT* (MIE) RELEVANTE DEL EJE ESTROGÉNICO EN UN ORGANISMO’

corta duración y compatible con estrategias de screening o priorización.

Desde la perspectiva del *Weight of Evidence* (WoE), esta posición intermedia es extraordinariamente valiosa. La guía EFSA-ECHA para identificación de disruptores endocrinos insiste en que la conclusión regulatoria no puede descansar en un único resultado aislado, sino en la integración de la actividad endocrina, el efecto adverso y plausibilidad biológica del vínculo entre ambos<sup>[3]</sup>. En ese esquema, los datos de *Level 2* —como transactivación ER, AR o H295R— son esenciales para construir hipótesis mecanísticas, pero pueden dejar sin respuesta la pregunta clave: ¿esa actividad se mantiene cuando la sustancia actúa en un organismo completo? Ahí es donde un método como el EASZY añade valor. No pretende cerrar por sí solo la identificación de un disruptor endocrino, pero sí elevar notablemente la robustez del WoE al demostrar que la señal mecanística no es solo una respuesta celular aislada, sino una respuesta *in vivo* biológicamente organizada e integrada.

Para el sector cosmético esta ventaja es incluso mayor que en otros ámbitos regulatorios. Las *Notes of Guidance* del SCCS, en su 12.<sup>a</sup> revisión, refuerzan la importancia de los NAMs (*New Approach Methods*), las IATA, los *Adverse Outcome Pathways* (AOPs), la revisión sistemática de la literatura y la integración de evidencia para la evaluación de ingredientes cosméticos [4]. El propio documento subraya la actualización de métodos alternativos no animales y de enfoques integrados como pieza central de la evaluación moderna. Además,

incorpora expresamente la cuestión de las sustancias con actividad endocrina dentro de los elementos que deben documentarse en un dossier<sup>[4,5]</sup>.

Esto tiene una consecuencia práctica inmediata: para una nueva entrada SCCS, el expediente ya no debería plantearse como una simple colección de estudios toxicológicos heredados, sino como una arquitectura de evidencia. En esa arquitectura, un ensayo como el EASZY ofrece varias ventajas simultáneas. Primero, proporciona información mecanística específica del eje estrogénico, evitando interpretaciones demasiado abiertas. Segundo, añade una dimensión *in vivo* muy difícil de obtener con métodos celulares puros. Tercero, lo hace con un nivel de productividad y estandarización que lo acerca al mundo del cribado de ingredientes más que al de los estudios largos de ecotoxicología o reproducción. Y cuarto, al operar en estadios embrionarios, se alinea mucho mejor con la expectativa regulatoria de priorizar NAMs en cosmética, y no utilizar modelos experimentales animales según la legislación europea de bienestar animal (EU Directive 2024/1262)<sup>[2, 4, 6]</sup>.

Conviene subrayar esta última idea. En la conversación regulatoria actual, no todos los ensayos *in vivo* se perciben igual. La OCDE clasifica el EASZY como *Level 3*, y su diseño con embriones de pez cebra hace que, desde la óptica europea, se sitúe en una zona metodológica especialmente útil para las estrategias de reemplazo y refinamiento. No es un ensayo “*in vitro* ampliado”, pero tampoco un ensayo animal clásico en el sentido regulatorio que tendría un estudio con

peces juveniles o adultos. Por eso, para cosmética, el EASZY puede funcionar como un verdadero puente entre la productividad de los ensayos *in vitro* y la relevancia biológica del organismo completo. Esa combinación es, probablemente, su mayor fortaleza.

La ventaja no es sólo ética o estratégica; es también científica. Muchos ingredientes cosméticos potencialmente problemáticos desde el punto de vista endocrino no fallan por ausencia de señal mecanística, sino por la dificultad de traducir esa señal a un contexto biológico más realista. Un positivo aislado en transactivación del receptor puede ser insuficiente si no se sabe si la sustancia alcanza la diana, si se metaboliza rápidamente o si su respuesta queda modulada por el entorno tisular. El EASZY ayuda a responder precisamente a esa pregunta intermedia: si el MIE sigue siendo detectable cuando la sustancia actúa en un organismo, y produce el AOP pertinente. Eso no sustituye a la evaluación global de seguridad, pero sí reduce la incertidumbre de manera mucho más eficiente que escalando directamente a métodos complejos.

En el ámbito del REACH, esta lógica también es relevante, aunque con un matiz jurídico que la industria cosmética no debe perder de vista. La interfaz entre REACH y el Reglamento cosmético no es binaria. La ECHA ha aclarado que, para sustancias de uso exclusivamente cosmético, no pueden realizarse ensayos con animales para cubrir requisitos REACH de salud humana vinculados al uso cosmético, mientras que el ensayo animal puede seguir siendo posible, como último recurso, para *endpoints* ambientales,

## ‘EL EASZY REPRESENTA PROBABLEMENTE UNO DE LOS EJEMPLOS DE HACIA DÓNDE EVOLUCIONA LA EVALUACIÓN DE DISRUPTORES ENDOCRINOS’

para usos no cosméticos o en otros escenarios regulatorios específicos<sup>[7, 8]</sup>. Paralelamente, el SCCS mantiene una posición más estricta para nuevos expedientes cosméticos: para la evaluación de seguridad de ingredientes cosméticos, el foco está en métodos validados no animales. En la práctica, esto significa que una empresa puede encontrarse con dos lógicas complementarias: en REACH, una gestión caso por caso con ciertas aperturas regulatorias; en SCCS, una expectativa clara de construcción del expediente sobre NAMs e integración de evidencia.

Precisamente por eso, los ensayos mecanísticos *Level 3* pueden convertirse en un punto de convergencia muy útil. Para REACH, fortalecen el WoE sin obligar a saltar de inmediato a estudios superiores. Para cosmética, aportan un tipo de evidencia especialmente atractivo: datos *in vivo* mecanísticos en un formato regulatoriamente compatible con la preferencia por los NAMs.

Dicho de otro modo, permiten defender mejor una hipótesis de ausencia o presencia de actividad endocrina sin abandonar el marco metodológico que hoy exigen los expedientes cosméticos modernos. Utilidad especialmente visible en tres momentos del ciclo de vida del ingrediente:

1. El *screening*: cuando una compañía evalúa nuevas materias primas, necesita discriminar rápido de manera robusta. Un paquete formado por literatura, *in silico*, *Level 2* y un *Level 3* como el EASZY ofrece una ruta sólida y proporcionada.
2. la preparación de dossier SCCS: donde la empresa necesita

demostrar que ha analizado de forma racional la posible actividad endocrina.

3. la reevaluación de ingredientes ya comercializados: especialmente cuando cambia el contexto regulatorio, aparecen nuevas preocupaciones públicas o se revisan las distintas clases de peligro.

En los tres casos, el EASZY no sustituye al expediente: lo estructura y lo hace más convincente.

La conclusión para la industria cosmética es clara. Si el objetivo es construir un WoE robusto, eficiente y alineado con la práctica regulatoria europea, los ensayos mecanísticos *Level 3* merecen ocupar una posición central en la estrategia. Entre ellos, el EASZY representa probablemente uno de los ejemplos más convincentes de hacia dónde evoluciona la evaluación de disruptores endocrinos, un método que combina especificidad mecanística, lectura *in vivo*, productividad compatible con un screening y encaje regulatorio como NAM en el contexto cosmético.

En este contexto la CRO Biobide cuenta con certificación BPL de ENAC y presenta una trayectoria de más de 20 años trabajando con modelos acuáticos y la implantación/validación operativa de ensayos como el EASZY en su plataforma, además de proyectos recientes con la industria cosmética en particular y química en general para la evaluación de compuestos mediante esta guía, en el terreno regulatorio y pre-regulatorio. En términos de dossier, un resultado consistentemente negativo en EASZY, integrado en un WoE bien estructurado, puede aportar valor tanto a la justificación científico-

técnica como a la documentación de soporte comercial B2B de ingredientes y productos

### REFERENCIAS

1. OECD. Endocrine disruptors. OECD Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disruptors (updated October 2024). <https://www.oecd.org/en/topics/sub-issues/testing-of-chemicals/endocrine-disrupters.html>
2. OECD. Test No. 250: EASZY assay - Detection of Endocrine Active Substances, acting through estrogen receptors, using transgenic tg(cyp19a1b:GFP) Zebrafish embryos. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 22021. DOI: 10.1787/0a39b48b-en. [https://www.oecd.org/en/publications/test-no-250-easzy-assay-detection-of-endocrine-active-substances-acting-through-estrogen-receptors-using-transgenic-tg-cyp19a1b-gfp-zebrafish-embryos\\_0a39b48b-en.html](https://www.oecd.org/en/publications/test-no-250-easzy-assay-detection-of-endocrine-active-substances-acting-through-estrogen-receptors-using-transgenic-tg-cyp19a1b-gfp-zebrafish-embryos_0a39b48b-en.html)
3. EFSA and ECHA. Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC) No 1107/2009. EFSA Journal 2018;16(6):5311. <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5311>
4. Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation, 12th revision (SCCS/1647/22; corrigenda 2023). [https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-12th-revision\\_en](https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-12th-revision_en)
5. European Commission. Ban on animal testing. [https://single-market-economy.ec.europa.eu/sectors/cosmetics/ban-animal-testing\\_en](https://single-market-economy.ec.europa.eu/sectors/cosmetics/ban-animal-testing_en)
6. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes (consolidated text). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/>

# NET ZERO TECH

III  
EDICIÓN  
2026

Competitividad y eficiencia energética en industria  
CAE, electrificación renovable, hidrógeno y biometano

3 y 4 de junio de 2026 • Recinto Ferial La Farga • L'Hospitalet - Barcelona



## DESCARBONIZACIÓN EL CAMINO HACIA LA NEUTRALIDAD CLIMÁTICA

### PATROCINADORES PLATINO

globalfactor

### PATROCINADORES ORO

AMMONGAS  
EUROPEAN ENERGY

EIFFAGE  
ENERGÍA SISTEMAS

repsol

serveo

STX

TEC  
NIQ

### PATROCINADORES PLATA

acciona  
energía



ACT

AENOR

AEFA

ALFACAE

ATTSU

FUTURE  
MOTORS

gen0

JUNO  
PROJECTS



sener

suez

SURION  
wind systems

TEMPO

thöni

WtEnergy  
advanced solutions

### MEDIA PARTNERS

ECOCONSTRUCCIÓN

energética

energetica

Farmespaña  
industrial

INDUSTRIA  
COSMÉTICA

LA VANGUARDIA

INFORMACIÓN

+34 916 308 591 / +34 671 556 329 info@netzero-tech.com netzero-tech.com