



Proyecto UNEP-GEF



*Desarrollo de un Marco Nacional de
Bioseguridad para Costa Rica*

***EVALUACIÓN DE RIESGOS EN
PRODUCTOS FARMACÉUTICOS
DERIVADOS DE LA BIOTECNOLOGÍA
MODERNA***

Elaborado por:

JENNY MUÑOZ VALVERDE

2004

Estrategias que se podrían aplicar para la evaluación de riesgos en productos farmacéuticos derivados de la biotecnología moderna para Costa Rica.

Jenny Muñoz Valverde¹

Los productos farmacéuticos derivados de la biotecnología moderna son las proteínas y las vacunas recombinantes que se utilizan en aplicaciones clínicas tanto en humanos como en animales.

1. Proteínas y péptidos terapéuticos recombinantes.

Muchas de las proteínas recombinantes son utilizadas en la medicina humana y animal, la mayoría son derivadas de animales, microorganismos o de tejidos humanos.

La producción de estas proteínas se ha llevado exitosamente a nivel industrial desde hace varios años; anticuerpos, hormonas y agentes anticancerígenos son sólo algunos ejemplos. Aunque la liberación comercial tarda mucho tiempo, el incentivo económico para las compañías farmacéuticas es enorme, ya que los procesos recombinantes presentan mayores rendimientos en menor tiempo (altas productividades). Por el campo de aplicación de estos productos, se requiere de una purificación exhaustiva previa a su uso en animales o humanos. Por lo que la ausencia de ADN en estas preparaciones involucra un bajo riesgo para la salud humana.

La llegada de la ingeniería genética ha logrado que numerosas proteínas potencialmente terapéuticas, que antes se producían solo en pequeñas cantidades, puedan elaborarse en grandes cantidades y hoy día existen cientos de genes de estas proteínas terapéuticas que se han expresado a nivel de laboratorio para su producción. Ya existen más de 30 proteínas aprobadas para su uso clínico.

La insulina es el primer caso de proteína por ingeniería genética aprobada para uso en humanos (en 1982, con el nombre comercial de Humulina®, de la compañía Eli-Lilly)

La primera proteína terapéutica recombinante obtenida en células de mamífero es el activador tisular del plasminógeno (tPA), que se administra a víctimas de ataques cardíacos (infarto agudo de miocardio). Esta sustancia cataliza la conversión del plasminógeno en plásmine, que a su vez disuelve la fibrina de los

¹ Ingeniera en Biotecnología. Consultora para el Proyecto: UNEP – GEF “Desarrollo de un Marco Nacional de Bioseguridad para Costa Rica” 2004.

coágulos sanguíneos. El tPA recombinante, desarrollado por Genentech fue licenciado en 1987 con el nombre comercial de Activasa®. Aparte de su empleo para el infarto agudo de miocardio (aprobado en 1987), se ha aprobado su empleo en el embolismo pulmonar agudo (1990) y en la isquemia aguda (1996).

En el siguiente cuadro se demuestra algunas de las proteínas terapéuticas recombinantes que se han elaborado actualmente para tratar diversas enfermedades y las empresas que las han desarrollado:

Sustancia	Empresa	Enfermedad
Factor antihemofílico	Miles, Baxter, Genetics Institute	Hemofilia A
Dnasa I	Genentech	Fibrosis quística
Eritropoyetina (EPO)	Amgen, Ortho Biotech	Anemia, enfermedad renal
Glucocerebrosidasa	Genzyme	Enfermedad de Gaucher
Hormona del crecimiento	Genentech	Enanismo hipofisario
Insulina	Eli Lilly	Diabetes
Interferón alfa-2 ^a	Hoffmann-LaRoche	Ciertas leucemias, sarcoma de Kaposi
Interferón alfa-2b	Schering-Plough	Ciertas leucemias, Sarcoma de Kaposi, hepatitis B y C
Interferón alfa-n3	Interferon Sciences	Herpes genital
Interferón gamma-1b	Genentech	Enfermedad de granulomatosa crónica
Interleucina-2	Chiron	Carcinoma células renales
Somatotropina	Eli Lilly	Deficiencia hormona crecimiento
Activador tisular del plasminógeno (tPA)	Genentech	Infarto agudo de miocardio, embolismo pulmonar masivo

1.1 Peligros potenciales de las proteínas recombinantes

Cuando las proteínas recombinantes están destinadas para el uso humano, los riesgos son las posibles reacciones alérgicas o de efectos laterales que ocurre con productos terapéuticos comúnmente usados como la insulina.

Sin embargo todas las proteínas y polipéptidos son normalmente desintegradas en el tracto digestivo, destruyendo así su "bioactividad". Sólo los péptidos pequeños pasan la barrera del epitelio digestivo, sin embargo esto es muy difícil que se dé.

Sin embargo el FDA informa que los estudios que se han hecho han demostrado que las hormonas de crecimiento humanas en ganado bovino, ovino y porcino, no son biológicamente activas entre los humanos.

2. Vacunas recombinantes.

Las vacunas recombinantes se han producido principalmente para uso veterinario y se han introducido a nivel comercial mucho más rápido que las vacunas humanas. Su estudio ha permitido ensayar a gran escala procesos que pueden ser aplicados directamente a vacunas para seres humanos. Las evaluaciones de riesgo son la clave para su desarrollo comercial y éstas dependerán del tipo de vacuna y de su aplicación. Entre los casos exitosos se encuentra la vacuna de pseudorabia liberada en los bosques franceses que permitió inmunizar poblaciones ferales como las de zorros, que causan graves problemas en el sistema agropecuario europeo.

En la medicina veterinaria, hay tres categorías de vacunas recombinantes reconocidas por el Departamento de Agricultura de E.U.A. (USDA):

1- Las vacunas recombinantes de tipo I (subunidad):

Se derivan de organismos recombinantes (los que pueden ser una levadura, una bacteria o un virus) en los que se ha insertado un gen extraño de un patógeno específico. El organismo recombinante que transporta al gen insertado se multiplica; y el producto del gen es cosechado, purificado y administrado como una vacuna. La vacuna de subunidad más exitosa en la medicina veterinaria es una vacuna recombinante contra la enfermedad de Lyme. Un sólo gen (que codifica la proteína A de la superficie externa [OspA]) obtenido de la *Borrelia burgdorferi* patogénica (el agente causal de la enfermedad de Lyme) se aísla y se inserta en *Escherichia coli*. Se propaga la *E. coli* y la proteína de subunidad se purifica y se prepara para ser administrada a los perros. Esta proteína se encuentra en la superficie externa de las espiroquetas y cuando es presentada al sistema inmunológico del animal vacunado provoca una respuesta humoral protectora específica, sin ninguno de los efectos adversos que se han presentado en vacunas que contienen la espiroqueta muerta.

2- Las vacunas recombinantes de tipo II (de gen delectado):

Siguen un modelo que ocurre en el laboratorio cuando los organismos son atenuados a través del crecimiento bajo condiciones consideradas poco ideales tales como temperatura variable, subcultivos múltiples y medios artificiales o huéspedes restringidos. La atenuación del organismo ocurre bajo estas condiciones ya que algunos genes son alterados y como consecuencia ya no son expresados. Con las técnicas modernas de manipulación genética, genes específicos como los asociados con la virulencia o patogenicidad, pueden ser delectados de un organismo patógeno. La deleción provoca que el organismo tenga menos probabilidad de causar enfermedad mientras que retiene su habilidad de estimular la inmunidad protectora.

3- Las vacunas recombinantes de tipo III (vectoriales):

Estas consisten de organismos no patogénicos o de gen delectado en el que se inserta un material genético específico de un patógeno con el propósito claro de estimular una respuesta inmunológica protectora cuando el vector es administrado al animal vacunado. Esta recombinación ocurre in vitro durante el cultivo en conjunto del vector y un plásmido que contiene el gen a insertar. Se han usado experimentalmente la Salmonella, Mycobacterium, adenovirus, lentivirus y poxvirus como vectores de una respuesta inmunológica. Los vectores más exitosos han sido los poxvirus. Estos virus tienen un genoma grande y pueden resistir múltiples manipulaciones sin afectar su habilidad de replicarse. Los vectores poxvirales son más eficaces que las vacunas muertas, son altamente específicos e inducen a una respuesta inmunológica de largo plazo. Debido a que contienen solamente gen(es) específico(s) del organismo patogénico, no pueden causar la enfermedad o volver a ser virulentos, no pueden replicarse y no son difundidos en el ambiente.

Tales vacunas se han utilizado en Programas para el control de la rabia en mapaches y zorros grises principalmente en Estados Unidos. En 1997 el USDA concedió la licencia a RABORAL V-RG para controlar la rabia en mapaches; y una licencia para controlar la rabia en coyotes y zorros.

Estas vacunas recombinantes tienen gran valor por las siguientes razones: a) son muy seguras ya que no exponen al animal al patógeno, en su lugar sólo contienen genes que codifican sustancias que inducen la inmunidad protectora; b) son altamente específicas principalmente las vacunas recombinantes de tipo I y II que inducen inmunidad específica en donde no hay oportunidad de reversión a la virulencia y en cada dosis se reparten cantidades inmunizadoras de sustancias de subunidad o de vectores que contienen genes específicos.

En cuanto a vacunas recombinantes para uso humano, se está trabajando con las vacunas de subunidades o péptidos. A diferencia de las vacunas actuales, las vacunas de subunidades no inoculan virus vivos, muertos o atenuados, sino que inoculan tan sólo aquella secuencia de aminoácidos que contiene la información genética con la cual el organismo patógeno elabora ciertas proteínas que pueden ser detectadas por el sistema inmunológico de las personas. Un ejemplo de este tipo de vacuna es la de la hepatitis B, en la que el agente que confiere la inmunidad es una proteína del virus causante de la enfermedad que es cultivada en levadura para luego ser inoculada en el organismo, esta fue la primera vacuna producida con tecnología de ADN recombinante puesta en el mercado.

Hay otro tipo de vacunas recombinantes y estas son las llamadas vacunas de ADN desnudo. Estas consisten en plásmidos de ADN en los que se introduce tan sólo la pequeña fracción del material genético del patógeno contra el que se pretende inmunizar (los genes que codifican la producción de uno o varios de sus antígenos). Se inyecta el plásmido en el músculo o en la piel, éste penetra dentro de la célula y llega al núcleo, para comandar desde allí la producción de los

antígenos del patógeno contra el que se quiere obtener inmunidad. Actualmente, se están llevando a cabo ensayos clínicos de al menos 10 vacunas de ADN desnudo para la hepatitis B, la malaria, la gripe, el herpes Simplex y el SIDA.

2.1. Evaluación de las vacunas

2.1.1. Toxicidad y comprobación de la inocuidad

La toxicidad que se estudia en los animales puede considerarse para la evaluación de los posibles efectos tóxicos potenciales de una vacuna destinada a un organismo blanco. Los estudios de toxicidad pueden ayudar identificar posibles problemas de toxicidad que requieren de una mayor supervisión clínica. Sin embargo, debe de tomarse en cuenta que un modelo animal conveniente no podría estar disponible para este tipo de evaluaciones o que tales modelos pueden tener una respuesta diferente a la que se manifestaría en los humanos. Además, la prueba de toxicidad de dosis repetidas como la que se aplica para la evaluación de medicinas pueda o que no pueda ser aplicable para las vacunas, ya que depende de la dosis de la vacuna vs la composición de la misma.

Si se piensa que una vacuna debe ser probada clínicamente en las mujeres embarazadas, se debe de hacer un estudio de la toxicidad fetal y prenatal a nivel de estudios en embrión en animales de laboratorio.

Las pruebas de toxicidad deben incluir:

- a) una evaluación de la dosis segura inicial y esquemas de aumento de la dosis pertinente a la dosis clínica
- b) una evaluación de una sola dosis y repeticiones apropiadas de la misma.
- c) determinación de una serie de parámetros de inocuidad para la supervisión clínica
- d) una demostración de una posible reversibilidad de virulencia de cepas de la vacuna atenuada
- e) una demostración de la inactivación de cepas para las vacunas inactivas,
- f) estudios de tolerancia
- h) una evaluación del potencial del antígeno de la vacuna para inducir los anticuerpos en el organismo blanco.

La inocuidad y los estudios de toxicidad deben ser realizados en un modelo animal conveniente al cual se le dirige las preocupaciones de inocuidad específicas asociado con la administración de la vacuna.

2.1.2. Potencia e inmunidad

2.1.2.1. La potencia de la vacuna

Deben de establecerse las pruebas de potencia durante el desarrollo de la vacuna. Ejemplos de estas pruebas son los ensayos intracerebrales en ratón para las vacunas contra la rabia, y evaluaciones de unidades infecciosas de los organismos atenuados para las vacunas virales y BCG. Algunas veces los ensayos de potencia deben simular la acción clínicamente esperada de la vacuna en los humanos (por ejemplo la vacuna contra la rabia).

Sin embargo, en muchos casos, esto no puede ser posible y los ensayos se basan en procedimientos artificiales que evalúan la protección clínica (por ejemplo la vacuna de pertussis celular). Para las vacunas del polisacárido de agente patógeno, la caracterización química puede ser suficiente. Para productos donde es poco conocido el mecanismo del patógeno y los factores de protección, la comprobación animal con la evaluación serológica podría ser de ayuda. Sin embargo, el comprender el mecanismo de protección y la inmunidad a la vacuna aumenta, por lo tanto, cada evaluación debe hacerse con ensayos in vitro basados en la actividad biológica del producto, sistemas de la prueba y métodos de laboratorio modernos siempre y cuando estén disponibles.

2.1.2.2. Inmunidad

La inmunización de animales con las preparaciones de la vacuna debe emprenderse desde que los datos obtenidos proporcionen la valiosa información para apoyar una indicación clínica.

Esto puede incluir la comprobación en los primates no humanos pero sólo si se cuenta con un modelo apropiado para la enfermedad contra la que se quiere dar inmunidad. Los datos de Inmunidad derivados de modelos animales pueden ayudar a seleccionar las dosis, los tiempos y las rutas de administración a ser evaluadas en los ensayos clínicos.

Deben de diseñarse los estudios preclínicos para evaluar las respuestas inmunes pertinentes, por ejemplo, la tasa de seroconversión, los títulos del anticuerpo y la inmunidad de las células en los animales vacunados. Los tales estudios también pueden dirigirse a la interferencia entre antígenos y/o los virus vivos. Si una vacuna consiste en más de un antígeno, la respuesta a cada antígeno debe de evaluarse. Los estudios de inmunidad pueden incluir la caracterización del tipo de anticuerpo, avidéz, la afinidad, medio de vida, memoria, y la inducción potencial de la célula que originó la inmunidad así como la liberación de mediadores solubles que afectan el sistema inmunológico.

La interpretación de los datos obtenidos de tales estudios debe ser llevada a cabo en los modelos animales que padecen una enfermedad humana y las respuestas inmunes humanas.

3. Procedimientos para la introducción de productos farmacéuticos de uso animal.

Microorganismos genéticamente modificados (MGM's) utilizados como vacunas vivas en animales para curar o tratar enfermedades.

1.
 - ¿Qué enfermedad será controlada por el uso de esta vacuna?
 - ¿En qué especies de organismos, la vacuna va ha ser usada?
 - ¿Cuál es el rango del organismo vacuna y del organismo parental del cual la vacuna fue construida?
2. Si la vacuna se destina a humanos, ¿Cuáles son los grupos blanco propuestos para la vacuna? Especifique el rango de edad, grupos de factor de riesgo, y el área geográfica, si aplica.
3.
 - Proporcione los datos con respecto al nivel y duración de inmunidad producidas en las especies hospederas después de la vacunación con el organismo vacuna.
 - ¿En que periodo puede ser el organismo vacuna detectado en los animales vacunados o en sus excreciones? Proporcione los datos de apoyo.
4. ¿El organismo vacuna puede ser transferido de los animales vacunados a los no vacunados u otras especies incluyendo al hombre? Si es así. ¿Cual es el mecanismo o frecuencia de transferencia? Proporcione los datos, si es disponible.
5. ¿Hay una evidencia para indicar la susceptibilidad del organismo vacunado al organismo vacuna que puede ser afectada por el estado en que se encuentra el organismo vacunado (por ejemplo, inmunosupresión a otras enfermedades) o por otros tratamientos como las drogas? Si es así, elabórelo
6. ¿El material genético del organismo vacuna tiene el potencial de llegar a ser incorporado en todo o parte del genoma de cualquier célula del organismo vacunado?

7. Si es una vacuna viral. ¿Puede el ácido nucleico del virus en la vacuna ser rescatado o convertirse al tipo silvestre por recombinación o complementación con virus intracelulares?

8.
 - ¿En los ensayos esta propuesto disponer o manejar de “la basura” que contiene el organismo vacuna? Si es así, describa el procedimiento
 - ¿Cuál es el destino de los organismos vacunados al final del ensayo?

9. Los humanos o animales vacunados, ¿Portarán los organismos vacuna vivos al final del ensayo? Si es así:
 - ¿Es probable que ellos diseminen el organismo vacuna vivo a su familia o la población general?
 - ¿Qué medidas se tomarían para minimizar esa probabilidad?
 - ¿Los organismos vacuna serán capaces de pasar la placenta durante el embarazo?

10. ¿Es probable que la utilización del organismo vacuna sea para evitar su subsecuente uso para la vacunación contra otras enfermedades? ¿Se afectará su utilidad para otras vacunaciones?

11.
 - ¿Existe la posibilidad de que la vacuna tenga efectos deletéreos en mujeres embarazadas o en animales preñados? Si es así, especifique. En el caso de los humanos, se debe de proveer toda la información apropiada de los modelos animales.
 - ¿Es la vacuna teratogénica (ocasiona defectos en el desarrollo) para el feto en cualquiera de las etapas de la gestación? Si es así, explique.

12.
 - ¿El microorganismo produce esporas?
 - ¿El microorganismo es resistente a la desecación o a otros agentes?
 - ¿Qué agentes antimicrobiales y para la esterilización son activos contra el microorganismo genéticamente modificado?
 - ¿Es el microorganismo susceptible a la radiación ionizante y ultravioleta?

Literatura Consultada

- Dole, J. y Persley, G. 1996. Enabling the Safe Use of Biotechnology: Principles and Practice. Environmentally Sustainable Development (ESD) Studies and Monographs Series N 10.
- Findinier I. 2003. . Animal Biotechnologies: State of the Art, Risks and Perspectives Inspecteur de la Santé Publique Vétérinaire (France).April – June 2003. FAO. <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/GenBiotech_en.pdf>
- Ford, R. 2004. La tecnología de Vacunas Recombinantes. College of Veterinary Medicine North Carolina State University Raleigh, North Carolina. <[Http: //www.webveterinaria.com/merial/vrecombinantes.html](http://www.webveterinaria.com/merial/vrecombinantes.html).>
- Iáñez, E. Instituto de Biotecnología Universidad de Granada
<<http://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/ingenetindustrial.htm>>
- Kent R. Van Kampen. 1998. Tecnología de las Vacunas en el Siglo XXI. Suplemento del Compendio de Educación Continua para Veterinarios. Vol. 20 N° 8(C)
< [http: //www.mevepa.cl/modules.php?name=News&file=print&sid=372](http://www.mevepa.cl/modules.php?name=News&file=print&sid=372).>
- Tzotzos, G. 1995. Genetically Modified Organism: A Guide to Biosafety. UNIDO – ICGEB - UNEP).Editorial: CAB INTERNATIONAL United Kingdom – England. Págs 36 – 63.