

El Residente

REVISIÓN - OPINIÓN

Eventos históricos, políticos y científicos de la biotecnología aplicada a la investigación biofarmacéutica en humanos

Susana Tera Ponce,* Jorge Armando Cuaxospa Jiménez*

RESUMEN. El uso de microorganismos para fines de consumo humano no es algo reciente; desde épocas muy antiguas las civilizaciones han incorporado productos biológicos y microorganismos a los procesos de producción. Sin embargo, para que estas estrategias fueran descritas y desarrolladas con bases científicas y pudieran trasladarse a un contexto médico y farmacológico tuvo que esclarecerse, primero, la naturaleza estructural del ADN y las proteínas. Los fármacos de origen biotecnológico se han posicionado fuertemente en el mercado debido, en gran parte, a que el tiempo y el dinero en desarrollarlos es considerablemente menor que el de un fármaco convencional. Los economistas prevén que en las siguientes décadas al menos 50% de los nuevos fármacos serán anticuerpos monoclonales. El esfuerzo por estandarizar las pruebas de intercambiabilidad con biocomparables ha comenzado en México y lo posicionarán como pionero a nivel mundial.

Palabras clave: Fármacos biotecnológicos, biotecnología, biopolíticas.

ABSTRACT. The use of microorganisms for the purpose of human use is not something recent; since ancient times civilizations have incorporated biological products and microorganisms to production processes. However, in order for these strategies to be described and developed with scientific bases, and transferred to a medical and pharmacological context, the structural nature of DNA and proteins had to be elucidated. Drugs of biotechnological origin have become strongly positioned within the market, partly due to the fact that time and money invested in developing them are considerably less than for a conventional drug. Economists foresee that in the decades to come, at least 50% of new drugs will be monoclonal antibodies. The effort to standardize exchangeability with biocomparable drugs has started in Mexico, and will position the country as a pioneer worldwide.

Key words: Biotechnologies, biotechnology, biopolitics.

* Unidad de Farmacología Clínica, Facultad de Medicina, UNAM.

Dirección para correspondencia:

Dra. Susana Tera Ponce

Unidad de Farmacología Clínica, Facultad de Medicina, UNAM

(55)4359-3792, 5336-3543, 5689-1519

E-mail: stera@unam.mx, jefeufc@liceaga.facmed.unam.mx

J. Armando Cuaxospa Jiménez:

(55)3985-4838, 5336-3543, 5689-1519

E-mail: armjorge@gmail.com

Recibido: 9 de junio del 2012.

Aceptado con modificaciones: 30 de julio del 2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/elresidente>

Introducción

Origen y definición

La Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos definió a la biotecnología como la aplicación de los principios de la ciencia e ingeniería al procesamiento de materiales por agentes biológicos para proveer bienestar y servicios.¹

En 1828, Jean-Jacques Virey, pupilo de Jean-Baptiste Lamarck, acuñó el término *biotechnie*, biotécnica, a la habilidad de usar la biología para realizar *algún fin*.² Su significado histórico se amplió en la definición actual debido a que la

biotecnología no usa exclusivamente organismos biológicos, sino también a sus productos.

La incorporación de organismos vivos en la elaboración de productos de consumo humanos no es una práctica reciente, de ella encontramos registros incluso en la mitología del antiguo Egipto, cuando Ra, el dios del sol con cabeza de halcón y su esposa Mut, diosa de las estrellas, tienen a su hija Hathor. Cuando Hathor bebe por primera vez cerveza se convierte en la diosa del amor, el juego, el canto, la danza y la risa. Hoy sabemos que el consumo de cerveza en el antiguo Egipto era una práctica cotidiana³ y que fueron las levaduras del género *Saccharomyces* los microorganismos que mediaron el proceso de fermentación.⁴ El consumo de esa bebida aumentó de manera muy sustancial al transcurrir los siglos; como respuesta a la demanda, tuvieron que desarrollarse métodos que permitieran obtener grandes volúmenes.

El médico de la Corte de Prusia, Georg Ernst Stahl (1659-1734), dedicó sus trabajos a la tecnología de la fermentación, llamada zimotecnología, y en 1697 publicó el libro *Zymotechnia Fundamentalis* (Zimotecnología Fundamental); este documento histórico se considera el fundador de la biotecnología.⁵

De manera creciente, los microorganismos fueron incorporándose a los procesos de producción; sin embargo, para que pudieran emplearse en el área médica y farmacéutica hacía falta más tecnología y más bases científicas. Löffler considera en su trabajo⁶ a cuatro científicos que aquilataron las bases de la biotecnología. Dos de ellos, G. Köler y C. Milstein, realizaron un trabajo pionero en anticuerpos monoclonales;⁷⁻⁹ por otro lado, S. Cohen y H. Boyer concluyeron su colaboración con la generación de ADN recombinante.¹⁰⁻¹²

El contexto en el que ambos trabajos se consumaron fue enérgico: habían pasado 17 años desde que se esclareció la estructura helicoidal del ADN y sólo tres años antes se desarrollaron los secuenciadores de proteínas. En el *cuadro I* se expone de manera cronológica esta sucesión de hechos, partiendo del descubrimiento de la estructura del ADN hasta llegar a la aprobación

del primer fármaco biotecnológico de estructura no proteica.

En los años 70 se establecieron las bases para que la biotecnología se expandiera a la medicina y a la terapéutica; décadas después la revolución llegó a las industrias farmacéuticas; posteriormente, a mitad de los 90, grandes firmas farmacéuticas tuvieron que usar mecanismos de *innovación* para competir contra pequeños laboratorios farmacéuticos que estaban usando biotecnología en la elaboración de nuevos fármacos.¹³

En 1922, Frederick Banting y Charles Best trataron exitosamente al primer paciente humano con insulina extraída de páncreas de cerdo y vacas.¹⁴ De 1922 a 1972 la única insulina que estaba disponible en el mercado se obtenía de pán-

Cuadro I. Desarrollo cronológico de vacunas y fármacos de origen biotecnológico.

Año	Evento histórico
1953	Se descubre la estructura helicoidal del ADN
1967	Se perfecciona el primer secuenciador de proteínas
1970	Se descubren las enzimas de restricción
1973	Cohen y Boyer produce ADN recombinante en bacterias, usando ligasas y enzimas de restricción
1975	Köler y Milstein producen anticuerpos monoclonales
1977	Logran expresar proteínas humanas en bacterias
1980	EEUU aprueba y patenta la tecnología de Cohen y Boyer
1981	Primer animal transgénico
1982	La FDA aprueba el primer fármaco biotecnológico: Humulina
1983	Se desarrolla la reacción en cadena de la polimerasa
1986	Primera vacuna recombinante para prevenir hepatitis B
1988	Primera patente para ratones genéticamente modificados
1990	Se inicia el proyecto del genoma humano
1994	Se aprueban DNAsas para tratar fibrosis quística
1997	Clonación de la oveja Dolly
2000	Se publica el borrador del genoma humano
2002	Se concluye el mapa del genoma humano FDA aprueba el primer fármaco oligonucleótido

creas de cerdos y vacas. Durante 1970 hubo mejoras en las técnicas de purificación y la insulina que se empleaba era más estable y tenía un periodo de acción predecible; históricamente la extracción se hacía adicionando a los páncreas congelados etanol y llevándolos a pH de 2 con HCl o H₂SO₄; con esto se inactiva la tripsina, luego se neutralizaba la solución con carbonato de calcio y el concentrado se concentraba por extracción con vacío a bajas temperaturas para después precipitar la insulina adicionando sales.¹⁵

En 1982, la FDA aprobó Humilina® (*Cuadro I*), una insulina recombinante que tenía dos grandes ventajas con respecto a la insulina purificada de cerdo y vaca: la cantidad que se puede obtener es virtualmente ilimitada y la insulina recombinante es idéntica a la insulina humana, por lo que las reacciones alérgicas, como las que ocurrían con insulina porcina, eran mucho menos frecuentes.¹⁵ En la *figura 1* se esquematiza un plásmido que codifica para insulina humana, con regiones de resistencia a antibióticos. La proteína ya plegada que surge de esa secuencia

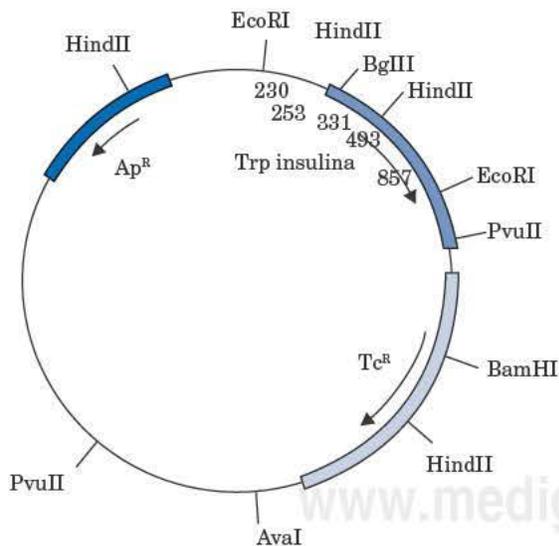


Figura 1. Estructura del plásmido que codifica para insulina: Ap^R es la región de resistencia a ampicilina, Tc^R la región de resistencia a tetraciclina, Trp las secuencias del operón de triptófano. Modificado de: Ladisch MR and Kohlmann KL. *Recombinant human insulin*. *Biotechnology Progress*, 1992; 8(6): 469-478.

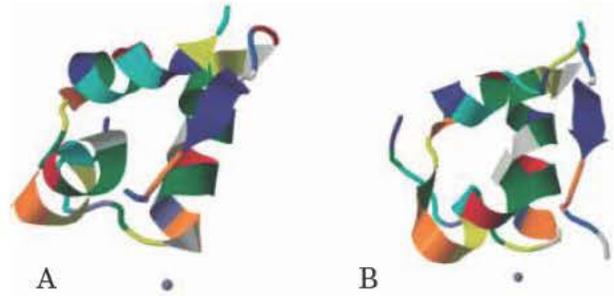


Figura 2 A. Cristalografía de insulina recombinante humana, y **B** de insulina porcina.

se muestra en la *figura 2 A*, y en la *figura 2 B* se muestra insulina purificada de páncreas de cerdo.

En el 2011, en México, se inició el primer proyecto a nivel mundial de regulación sanitaria para aquellas unidades que realizan investigación clínica con productos de origen biotecnológico. Este proyecto sanitario inició con la elaboración de la norma técnica que describe los requisitos a los que deberán de sujetarse todas las unidades de terceros autorizados para realizar estudios de bioequivalencia que quieran aspirar a realizar estudios de biocomparabilidad. La continuación de este proyecto, una vez que existan los terceros autorizados con autorización sanitaria para este rubro, es regular los registros sanitarios de aquellos productos de origen biotecnológico a través de las pruebas de biocomparabilidad.¹⁶ El proyecto de elaboración de esta norma, en la fecha en que este trabajo se somete a revisión, aún no concluye pero se estima que a finales de abril del 2012 se publicará en el Diario Oficial de la Federación.

Impacto económico de los biotecnológicos

En la década de los 80, en EUA, la industria biotecnológica lanzó al mercado 18 nuevos fármacos y vacunas. En comparación con los 33 fármacos que fueron aprobados de 1998 a 1999, 25 más fueron aprobados en la primera mitad del año 2000 (*Figura 3*). El número de patentes otorgadas a las compañías biotecnológicas fue de 3,000 por año a inicio de los 90 y aumentó a más

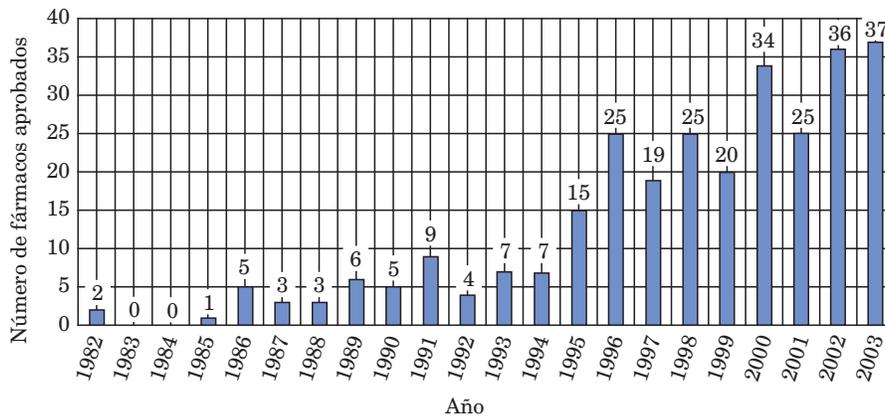


Figura 3. El número de fármacos y vacunas de origen biotecnológico aprobados desde el año de 1982 son prueba del marcado crecimiento de este mercado, de 1982 a 1992 fueron aprobados 38 fármacos y vacunas; tan sólo en el 2003 fueron aprobados 37. Datos obtenidos de: Blake RG and Strickland D. *Guide to biotechnology 2008*.¹⁸

de 9,000 por año en 1998. Entre 1998 y 1999, la ganancia por las ventas en la industria se incrementó 13%, de \$16.1 miles de millones a \$22.3 miles de millones de USD;¹⁷ esta posición económica de los bioterapéuticos los hace un mercado sólido y en crecimiento.

De acuerdo con el reporte PHARMA 2010,¹⁸ los productos de origen biotecnológico representaron más del 35% de las 37 *nuevas sustancias activas* que fueron lanzadas en el 2001 y se estima que la mitad de *nuevas sustancias activas* en los próximos 10 a 15 años serán resultado tan sólo del desarrollo de anticuerpos;¹⁸ esta posición económica de los bioterapéuticos los hace un mercado sólido y en crecimiento.

Los analistas económicos predicen un desarrollo exitoso a aquellos segmentos farmacéuticos cuyos productos se han centrado en el tratamiento de enfermedades específicas usando como base conocimientos de genómica, proteómica y metabolómica. Una quinta parte de la inversión en investigación y desarrollo de la industria farmacéutica se destinó a biotecnológicos,¹⁹ de ella el 34% de los bioterapéuticos en fase clínica del periodo comprendido entre 1996 y 1998 alcanzaron el mercado, comparado con el 8% de las nuevas moléculas que alcanzaron el mercado en ese mismo periodo.^{18,20} Debido a que el desarrollo de fármacos biotecnológicos generalmente reside en una comprensión fundamental de la enfermedad relacionada, su desenlace clínico es frecuentemente más satisfactorio de lo que se espera con los productos basados en moléculas sintéticas.^{18,20}

Antes de que la biotecnología se introdujera en la investigación industrial, el costo de desarrollo de un fármaco era en promedio \$800 millones de USD y pasaban al menos 15 años para que pudiera ser comercializado. El 75% del dinero invertido era destinado a los fallos que había en el desarrollo. Usando biotecnología, existe una probabilidad real de reducir el costo a \$500 millones de USD y reducir, también, el tiempo en un 15%.¹⁷

Caracterización de los productos biofarmacéuticos

Las proteínas recombinantes son los productos principales de la industria biofarmacéutica y deben caracterizarse antes de que salgan al mercado. Las Conferencias Internacionales de Armonización (ICH, por sus siglas en inglés) han emitido una serie de lineamientos para normalizar puntos clave en cuanto a la calidad, estabilidad y validación del método.²¹

Las entidades regulatorias de cada país son las encargadas de emitir los lineamientos que deberán cumplirse cuando se realiza investigación farmacéutica en humanos. La regulación de biotecnológicos por la FDA se hace a través del Centro de Evaluación Biológica e Investigación (*Center for Biologics Evaluation and Research*, CBER) y el de moléculas sintéticas por el Centro de Evaluación de Fármacos e Investigación (*Center for Drug Evaluation and Research*, CDER), habiendo ocurrido una transferencia de

la responsabilidad regulatoria para muchas de las proteínas recombinantes de CBER a CDER a partir del 2006.²²

Las proteínas recombinantes tienen una altísima similaridad con las proteínas endógenas; por esta característica requieren de un estudio minucioso de sus implicaciones bioéticas y científicas.

En el marco científico es esencial definir constructo como el vector de expresión donde se encuentra la secuencia de DNA que codifica para la proteína recombinante. El propósito de analizar la secuencia es para tener la certeza de que se incorporó el código al banco de células y que éste mantiene su integridad durante el proceso de producción; hay que resaltar que la estructura terciaria que adquirirá la proteína recombinante al plegarse y las modificaciones postraduccionales (acetilación, glucosilación, fosforilación, etcétera) no podrán obtenerse a partir del análisis de la secuencia.

Cada célula tiene un número de constructos y no todos los constructos tienen actividad traduccional, debido a esto es preferible estudiar la secuencia a través del mRNA o cDNA y no a través del DNA genómico.²³ Las proteínas recombinantes deben producirse en bancos celulares maestros y de trabajo. Un banco celular maestro es derivado de la clona celular que tiene el constructo. Un banco celular de trabajo se deriva de la expansión clonal del banco celular maestro.²⁴ Los bancos celulares son sitios vulnerables de contaminación viral, tanto en los bancos celulares maestros como en los bancos celulares de trabajo.²⁵ El sistema donde se está expresando el constructo son células y deben estar bajo condiciones específicas para cada línea celular y los

proveedores deben describir cómo elaboraron la secuencia de nucleótidos que codifica para la proteína y en esta descripción debe incluirse la identificación y fuente de las células de las que la secuencia fue obtenida originalmente.²⁴ La secuencia del constructo no codifica exclusivamente para la proteína, tiene componentes como origen de la replicación, genes de resistencia a antibióticos y promotores.²³

Conclusiones

Tuvieron que pasar varios siglos desde el uso artesanal de levaduras en la fermentación de cerveza hasta el uso de DNA recombinante e hibridomas en los sistemas de producción enfocados a la terapéutica. Al inicio de la industria biotecnológica los métodos necesarios para la caracterización de las proteínas bioterapéuticas no existían.²¹ Era en aquel entonces difícil, si no es que imposible, caracterizar cualquier bioterapéutico que no fuera un péptido pequeño sin modificaciones postraduccionales. En un intento por regular los procesos de producción en biotecnología, las guías internacionales se abocaron a los factores que pueden modificar la estabilidad y la pureza de las proteínas recombinantes. Estos factores son contaminaciones virales, variantes proteicas, oxidación, desamidación, estabilidad, caracterización fisicoquímica y bioensayos (métodos para evaluar la integridad de las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas). México es el primer país en el mundo que ha iniciado el proceso regulatorio en el marco de la biotecnología, a través de unidades de terceros autorizados para realizar pruebas de biocomparabilidad.

Bibliografía

1. Bull AT, Holt G, Lilly MD. *Biotechnology: International trends and perspectives*. Paris: OECD; 1982.
2. Berman A. Romantic Hygeia: JJ Viery (1775-1846). *Bulletin of the History of Medicine* 1965; (39): 134-142.
3. Dornbusch H. Egyptian beer for the living, the dead and the gods. *BeerAdvocate Exclusive*, 2005.
4. Piskur J et al. How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer? *Trends Genet* 2006; 22(4): 183-6.
5. Bud R. History of biotechnology. In: *The uses of life: a history of biotechnology*. New York: Cambridge University Press; 1994: 524-531.
6. Löffler A. Trends in biotechnology: implications for the pharmaceutical industry. *Journal of Medical Marketing: Device, Diagnostic and Pharmaceutical Marketing*, 2002; 2(4): 345-348.
7. Rajewsky K. Obituary: Cesar Milstein (1927-2002). *Nature* 2002; 416(6883): 806-806.

8. Melchers F, Georges Kohler (1946-95). *Nature* 1995; 374(6522): 498-498.
9. Cohen SN et al. Construction of biologically functional bacterial plasmids *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70(11): 3240-3244.
10. Bera RK. The story of the Cohen-Boyer patents. *Current Science* 2009; 96(6): 760-763.
11. Alkan SS. Monoclonal antibodies: the story of a discovery that revolutionized science and medicine. *Nat Rev Immunol* 2004; 4(2): 153-156.
12. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256(5517): 495-497.
13. Galambos L, Sturchio JL, Pharmaceutical firms and the transition to biotechnology: a study in strategic innovation. *The Business History Review* 1998; 72(2): 250-278.
14. Barfoed H. Insulin production technology. *Chemical Engineering Progress* 1987; 83(10): 49-54.
15. Ladisch MR, Kohlmann KL. Recombinant human insulin. *Biotechnology Progress* 1992; 8(6): 469-478.
16. Federación, D.O.d.l., Grupo de Autoridades Regulatorias y Expertos. Facultad de Medicina, UNAM, 2011-2012.
17. Tollman P et al. A revolution in R&D: How genomics and genetics are transforming the biopharmaceutical industry, 2001, The Boston consulting group: Boston.
18. Arlington S et al. *Pharma 2010: The threshold to innovation*. Somers, NY: IBM Business Consulting Services, 2002.
19. Meibohm B, Derendorf H. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of biotech drugs. In: Kayser O, Müller RH editors. *Pharmaceutical biotechnology*. 2004, Wiley-VHC: Weinheim.
20. DeLamarter J, Fumero S. Today's alliances for tomorrow's medicines. *Drug Discov World* 3, 2002; Fall: 9-14.
21. Krull IS, Swartz M. Validation in biotechnology and well-Characterized biopharmaceutical products. *Pharmaceutical Regulatory Guidance Book* 2006.
22. Carr CD, LCGC, LC Column Technology Supplement. 2006: 44.
23. ICH-Q5B, Quality of biotechnological products: Analysis of the expression construct in cell lines used for production of r-DNA derived protein products. European Medicines Agency, 1996. CPMP/ICH/139/95.
24. ICH-Q5D, Quality of biotechnological products: derivation and characterization of cell substrates used for production of biotechnological/biological products. European Medicines Agency, 1998. CPMP/ICH/294/95.
25. ICH-Q5A, Quality of biotechnological products: viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. European Medicines Agency, 1997. CMP/ICH/195/95.