

Perspectivas en Investigación

Revista Oficial de IPCI (Instituto Pfizer para la Ciencia y la Investigación)

VOLUMEN 2017; 7 (1): 1-42

- **El NNT, ¿una variable epidemiológica esencial?**
- **Actividad antimicrobiana de nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO) con diferentes morfologías sintetizadas empleando ultrasonido**
- **Nuevas técnicas en el desarrollo de vacunas**
- **Efectos tóxicos de la radiación y su abordaje terapéutico**
- **Comentemos sobre ... Las consideraciones de las poblaciones especiales en la investigación con seres humanos**



Indice

Créditos

IPCI
 Instituto Pfizer
 para la Ciencia
 y la Investigación

Comité Editorial

Dra. Ana María Valderrama
 Directora Médica
 Pfizer América Central y Caribe

Dr. Daniel Bustos Montero
 Gerente Médico
 Franquicia Cardiometabólica
 Pfizer América Central y Caribe

Dr. Gastón Solano Donato
 Gerente Médico
 Franquicia Biológicos
 Pfizer América Central y Caribe

El NNT, ¿una variable epidemiológica esencial? 3

Actividad antimicrobiana de nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO) con diferentes morfologías sintetizadas empleando ultrasonido..... 8

Nuevas técnicas en el desarrollo de vacunas17

Efectos tóxicos de la radiación y su abordaje terapéutico 24

Comentemos sobre ... Las consideraciones de las poblaciones especiales en la investigación con seres humanos 37



Notas Editoriales

Esta publicación puede ser reproducida en todo o en parte , siempre y cuando se cite la fuente como (perspectivas en investigación Volumen Volumen 2017; 7 (1): 1-42

Esta es una publicación privada, dirigida exclusivamente al destinatario. Los lectores deberán evaluar por cuenta y riesgo propio la conveniencia o inconveniencia del uso de esta información para la toma de decisiones. Las opiniones expuestas en los artículos o comentarios de esta publicación son de exclusiva responsabilidad de sus autores. La redacción se reserva el derecho de editar artículos.

El NNT, ¿una variable epidemiológica esencial?

Autor: *Josué Hidalgo-Godínez^{1,2}; Mónica Peralta-Acón, Pharma D MHE3*

Afiliación: *1. Estudiante de Farmacia Universidad de Costa Rica. 2. Interno Health Economics and Outcomes Research, Pfizer América Central y Caribe. 3. Coordinadora Health Economics and Outcomes Research, Pfizer América Central y Caribe.*

Correspondencia: *Edificio Meridiano, Piso 7, Escazú, San José, Costa Rica*

Email: *joslhg1@gmail.com*

Conflicto de interés: *Ninguno*

Palabras clave: *NNT, número necesario a tratar, cáncer y epidemiología.*

Introducción

El NNT (número necesario a tratar) se define como la cantidad de pacientes que se requieren tratar con una tecnología en salud, para obtener una mejora completa en uno de los individuos tratados con esa tecnología, en comparación con aquella que es considerada estándar¹. Cabe mencionar que el NNT es considerado una variable bioestadística y epidemiológica. Un caso hipotético en donde se puede observar el uso de esta variable, sería por ejemplo, al evaluar un medicamento “A” que reduce la

probabilidad de sufrir un evento vascular cerebral (EVC). Si el NNT del medicamento “A” es de 10, quiere decir que se requiere tratar a 10 pacientes con el medicamento “A” para que 1 de ellos no sufra un EVC comparado al tratamiento estándar o placebo.

Dicha variable epidemiológica, propuesta por Laupacis et al, en 1988 responde a la necesidad de resumir y observar un beneficio tangible en la población a la que se le administraría una tecnología en salud, misma que puede ser un producto farmacéutico, un procedimiento médico, equipo biomédico, entre otras³. Por lo tanto, el NNT puede ser utilizado en la toma de decisión en los sistemas de salud, para evaluar la implementación de una tecnología. Tal es el caso de algunos países de Centroamérica y Caribe, que han implementado este criterio dentro de su evaluación tecnológica, con el objetivo de incluir variables bioestadísticas y epidemiológicas en la toma de decisión.

Pese a las ventajas que presenta esta variable, se han observado casos en los que el NNT tiende a producir controversias, y posibles dilemas, al momento de la evaluación de una tecnología en salud. Un ejemplo de ello es cuando se analizan medicamentos diseñados para tratar algún tipo de cáncer en estadio terminal, en donde a un largo plazo se obtiene un valor de NNT aproximadamente infinito, debido a la poca posibilidad que existe de que

se dé la mejora de un 100% en dicha patología, lo que puede generar una percepción errónea del beneficio y/o perjuicio del medicamento en evaluación.

Debido a estos y otros inconvenientes que han surgido al utilizar esta variable epidemiológica, surge la duda de si se debe seguir utilizando ampliamente como un parámetro esencial en la evaluación de tecnologías en salud. El presente artículo ejemplificará el uso e interpretación del NNT en la evaluación de tecnologías de salud.

El Cálculo del NNT

El NNT usualmente se obtiene utilizando la fórmula (i); la cual se calcula como el inverso de la reducción del riesgo absoluto (RRA), que a su vez se calcula utilizando la fórmula (ii); que es la diferencia entre la tasa de ocurrencia de un evento dado en el grupo control y la tasa de ocurrencia del mismo evento en el grupo en tratamiento ⁴. En otras palabras, la reducción del riesgo absoluto indica en qué grado es más común que ocurra un evento negativo dentro del grupo control con respecto al tratamiento. Es importante mencionar, que

se habla de un evento negativo debido a que es la “reducción del riesgo” de un suceso.

Un punto importante que se debe de tener en cuenta a la hora de realizar esta clase de

$$(i) NNT = \frac{1}{RRA}$$

$$(ii) RRA = Tasa\ ocurrencia\ del\ control - Tasa\ de\ ocurrencia\ del\ tratamiento$$

cálculos, es que ellos deben comparar por lo menos dos tecnologías en salud, una que sería aquella que se desea evaluar; y la segunda que corresponde a la terapia estándar o placebo (en caso de que en el mercado no exista todavía una establecida) ⁵.

Otra manera de poder calcular el NNT, es en forma porcentual representada por las tasas de ocurrencia. Para ello, se grafica la eficacia/efectividad de cada una de las tecnologías en evaluación con respecto a un 100% de beneficio, de forma que se pueda calcular la RRA como la diferencia gráfica entre la eficacia/efectividad de cada una de las tecnologías y pueda aplicarse la fórmula (i). Esta forma de cálculo se observa en el siguiente ejemplo hipotético:

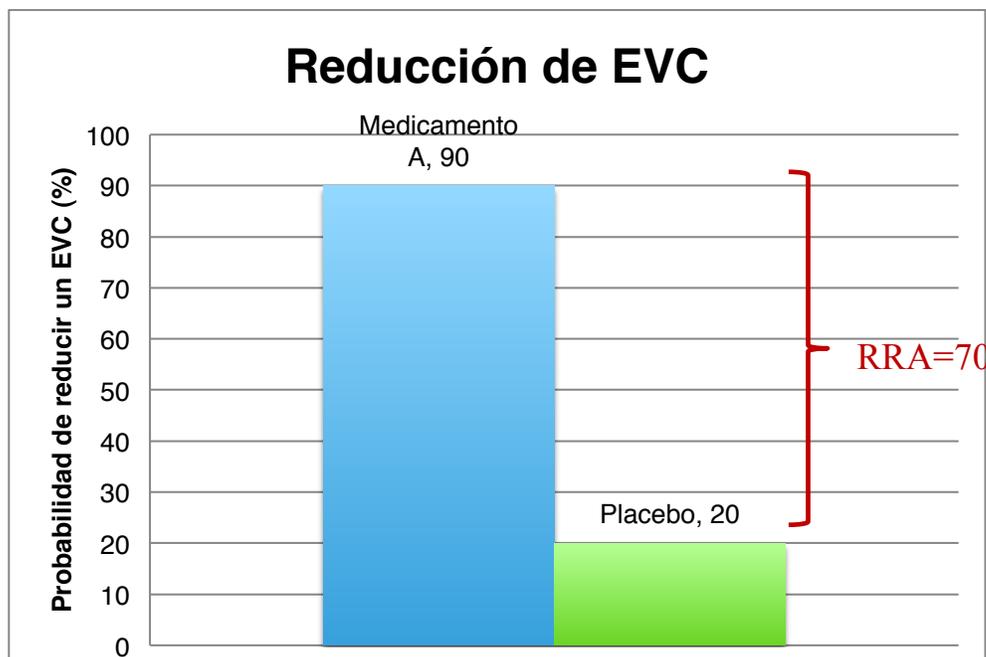


Figura 1. Análisis comparativo de medicamentos utilizados en la prevención de EVC.

En la figura 1, se puede observar como el placebo reduce en un 20% la probabilidad de sufrir un EVC, mientras que el medicamento “A” lo hace en un 90%; lo cual se puede interpretar de la siguiente manera: de cada 100 pacientes que podrían sufrir de un EVC, se pueden prevenir 20 casos al utilizar un placebo (probablemente aquellos pacientes que gozan de una mejor salud y por ende no lo sufren) y 90 casos al usar el medicamento “A”. En este caso el NNT del medicamento “A” presenta un valor de 1,43; lo que quiere decir que al utilizar el medicamento “A” se requerirá tratar al menos dos pacientes para observar la prevención de un EVC en uno de ellos, en comparación al uso de un placebo. El redondeo del NNT, se debe aplicar a la unidad siguiente ya que no se puede tratar menos de un paciente.

Además, es importante considerar que el dato del NNT para patologías de corto término o con escala de medición completa se puede comparar entre sí es decir, si en un estudio se analizan las tecnologías “A” y “B”, y en otro estudio se analizan las tecnologías “A” y “C”, los NNTs obtenidos en cada uno de los estudios son comparativos. Caso contrario sucede con las patologías largo término, o donde se analizan mediciones intermedias como: la PFS (Progresión libre de enfermedad, por sus siglas en inglés), el ACR20 (Criterio de mejora frente a la artritis reumatoide por parte de un medicamento), la escala Hamilton, entre otras; en las que los valores de NNT solo aplicarán para las tecnologías, objetivos y tiempo establecidos en el estudio en el que fueron medidos.

Su resultado no lo es todo:

Tal como lo hemos observado, sería lógico asumir que un menor número del NNT es mejor, debido a que lo ideal sería observar resultados positivos con un menor número de pacientes por tratar.⁶ No obstante, existen casos en los que se deben tener en cuenta otras implicaciones que pueden afectar el valor del NNT, pues este no las considera. Tal es el caso de: a) el factor económico, b) efectos adversos y c) efectos positivos parciales⁷.

Cada una de estas implicaciones se analizará a continuación:

a. Factor económico

En ocasiones, se puede encontrar casos en los que se obtienen NNTs con valores muy bajos; sin embargo, la tecnología tiene un valor económico significativamente alto, por lo que no podría ser soportada, económicamente, por el sistema de salud. Un ejemplo de ello es el de un medicamento hipotético “Y” que promete reducir a la mitad los síntomas de la diabetes, el cual presenta un NNT de 5 y un costo de treinta millones de dólares por tratamiento; en este caso el NNT es sumamente bajo, pero si se considera que el país “X” cuenta con 200.000 pacientes diabéticos, es poco probable que se pueda realizar una inversión tan alta por paciente, para la mejora del 20% de dicha población ^{4, 8-10}.

b. Efectos adversos:

Otro caso en el que un valor considerablemente ventajoso de NNT puede no serlo del todo, es cuando la implementación de una tecnología en salud acarrea efectos adversos más graves que las ventajas propuestas. Un ejemplo de ello se puede observar al implementar un procedimiento quirúrgico innovador “C”, el cual promete una disminución en el tiempo de cirugía en adulto de 45% a un precio razonable y con un NNT de 2 (se requerirá realizar el procedimiento en dos pacientes para observar en uno de ellos la reducción del 45% en el tiempo de cirugía), hasta este punto se puede considerar que la implementación de este nuevo procedimiento debe ser esencial; sin embargo, si dicho procedimiento aumentara el riesgo de morir durante la cirugía en un 80% a la hora de realizarse en niños, la tecnología sería muy riesgosa y no debería de implementarse en esta población ^{4, 8-10}.

c. Efectos positivos parciales:

Un inconveniente que puede presentar el uso del NNT, es que este valor solo considera aquellos casos en los que existe una mejoría de un 100%; por lo que no toma en cuenta todos aquellos pacientes en los que la tecnología implementada pueda producir un efecto beneficioso parcial. Un ejemplo de ello puede ser el uso de un medicamento hipotético “F” el cual está indicado para la artritis reumatoide, y ha demostrado producir un ACR50 Definir a los tres meses de su consumo, un costo asociado bajo y un valor de NNT de 25. A primera vista, se puede suponer que el NNT tiene un valor moderado y no ser contemplado para su implementación dentro de los sistemas de salud; sin embargo, en otros análisis se encontró que el mismo fármaco produjo un ACR20 en el 90% de los pacientes en los primeros tres meses. En este caso, se puede observar como el valor del NNT no contempla los efectos positivos parciales y surge entonces, una necesidad de conocer las ventajas y desventajas de la tecnología, antes de calcular el NNT y tomar una posible decisión ^{4, 8-10}.

Valor del NNT elevado:

Como se ha observado, la variable en estudio puede ser alterada por diversos factores que se han estudiado y ejemplificado anteriormente; por lo tanto, hay casos en los que el simple valor del NNT puede ser alto y aun así la tecnología en salud puede ser aceptable. Tal es el caso de un medicamento hipotético “J” indicado para tratar el síndrome de intestino irritable (SII), el cual tiene un costo muy bajo, no tiene efectos adversos y cuenta con un valor de NNT igual a 300 (se requiere tratar a trescientos pacientes para ver en solo uno de ellos, la erradicación de la enfermedad). En este caso, debido a sus factores ideales, la tecnología en salud debe considerarse, pues el beneficio es más alto que los posibles riesgos y costos⁴.

El cáncer y el valor del NNT:

Una vez observados los diversos factores que pueden afectar directamente el valor del NNT, es adecuado mencionar que este valor presenta la ventaja de que puede ser calculado en toda clase de tecnologías en salud y para toda clase de enfermedades; sin embargo, existen casos en donde por factores patológicos se puede generar confusión a la hora de su cálculo ^{4, 10}. Un caso en donde se puede observar este fenómeno es en el cáncer.

El cáncer se define como aquella enfermedad caracterizada por un crecimiento anormal y descontrolado de células; la cual tiende a movilizarse a diversos tejidos corporales, dificultando el correcto funcionamiento orgánico¹¹. Debido a sus características clínicas, esta patología se caracteriza por ser crónica, progresiva y recurrente. Ahora bien, las tecnologías en salud destinadas a su tratamiento buscan erradicar, disminuir el tamaño y prevenir la progresión del cáncer ¹².

A la hora de llevar un control de dicha enfermedad, se utilizan las variables de PFS, TTP (tiempo para progresión, por sus siglas en inglés) o OS (sobrevida global, por sus siglas en inglés); siendo el PFS y el OS los más utilizados, tomando en cuenta que, debido a su cálculo, el primero se utiliza para tecnologías nuevas y el segundo para aquellas que ya presentan un tiempo en el mercado¹³. Ahora bien, un punto que se debe tomar en cuenta es que los resultados obtenidos de dichas variables al estudiar una tecnología en salud dirigida al cáncer, es que sus resultados varían de forma considerable durante el tiempo; produciendo de esta forma, que los valores obtenidos entre la tecnología en evaluación y estándar se acerquen y se alejen en diferentes momentos en el tiempo del desarrollo del estudio.

El fenómeno gráfico descrito, hace que de igual forma los valores de RRA se acerquen y se alejen durante el tiempo en el que se lleva a cabo el estudio, por lo que calcular el NNT en un punto del estudio podría resultar subjetivo. Por dicha razón, dicha variable epidemiológica es calculada dependiendo del objetivo o al finalizar el estudio; logrando un “mayor grado de confianza” en sí. Sin embargo, tanto los objetivos como los puntos finales de un estudio son establecidos previamente por los investigadores, y son variables entre las tecnologías y patologías analizadas.

En conclusión, un valor alto o bajo del NNT por sí mismo, no brinda información suficiente para determinar si la tecnología de salud es conveniente o no, para su adquisición. Por lo que su valor debe ser interpretado y analizado según el contexto en el que se obtuvo. Por tanto, ¿cuál sería el valor real del NNT en términos clínicos y numéricos?

Bibliografía

1. Walter S. Number needed to treat (NNT): estimation of a measure of clinical benefit. *Statistics in medicine*. 2001;20(24):3947-62.
2. Laupacis A, Sackett DL, Roberts RS. An assessment of clinically useful measures of the consequences of treatment. *New England journal of medicine*. 1988;318(26):1728-33.
3. Informe sobre la salud en el 2000 - Mejorar el desempeño de los sistemas de salud. Ginebra: Organización Mundial de la Salud (OMS); 2000.
4. Hutton JL. Number needed to treat and number needed to harm are not the best way to report and assess the results of randomised clinical trials. *British Journal of Haematology*. 2009;146(1):27-30.
5. Moore A, McQuay H. Numbers needed to treat derived from meta analysis. NNT is a tool, to be used appropriately. *BMJ*. 1999;319.
6. Halvorsen PA, Kristiansen IS, Aasland OG, Førde OH. Medical doctors' perception of the "number needed to treat" (NNT). *Scandinavian journal of primary health care*. 2003;21(3):162-6.
7. Altman DG, Deeks JJ. Meta-analysis, Simpson's paradox, and the number needed to treat. *BMC Medical Research Methodology*. 2002;2(1):3.
8. Ghosh AK, Ghosh K. Misinterpretation of numbers: a potential source of physician's error. *The Lancet*. 2004;364(9440):1108-10.
9. Schechtman E. Odds Ratio, Relative Risk, Absolute Risk Reduction, and the Number Needed to Treat—Which of These Should We Use? *Value in Health*. 2002;5(5):431-6.
10. Barratt AL, Wyer PC, Guyatt G, Simpson JM. NNT for studies with long-term follow-up. *Canadian Medical Association Journal*. 2005;172(5):613-5.
11. Cornett PA, Dea TO. Cancer. In: Papadakis MA, McPhee SJ, Rabow MW, editors. *Current Medical Diagnosis & Treatment 2017*. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2016.
12. Kelloff GJ, Bast RC, Coffey DS, D'Amico AV, Kerbel RS, Park JW, et al. Biomarkers, surrogate end points, and the acceleration of drug development for cancer prevention and treatment. *Clinical cancer research*. 2004;10(11):3881-4.
13. Burzykowski T, Buyse M, Piccart-Gebhart MJ, Sledge G, Carmichael J, Lück H-J, et al. Evaluation of Tumor Response, Disease Control, Progression-Free Survival, and Time to Progression As Potential Surrogate End Points in Metastatic Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2008;26(12):1987-92.

Actividad antimicrobiana de nanopartículas de óxido de Zinc (ZnO) con diferentes morfologías sintetizadas empleando ultrasonido

Autores: Yendry Regina Corrales Ureña^{1,2,3*}, Matheus Vieira Nascimento², Juliano Faccioni², Brian Alfaro¹, Klaus Rischka², José Roberto-Vega Baudrit¹, Paulo Noronha Lisboa Filho³.

Afiliaciones: 1. Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC), Costa Rica. 2. Fraunhofer Institute for Manufacturing Technology and Advanced Materials (IFAM), Alemania. 3. Universidad Estatal de São Paulo Julho Mesquita Filho (UNESP), Brasil

Correspondencia: yendry.corrales.urena@gmail.com

Conflicto de intereses: Ninguno

la síntesis. Se obtuvieron nanopartículas con morfologías esféricas, de bastones hexagonales y en forma de flor con tamaños de entre 600-900 nm. Se evaluaron las propiedades antimicrobianas de las mismas; siendo las de morfología en forma de flor y con menor tamaño las que produjeron una mayor inhibición del crecimiento de *Escherichia Coli* (*E. coli*). Además, se realizaron ensayos de citotoxicidad con fibroblastos expuestos a diferentes concentraciones de nano-flores en el medio de cultivo. Se determinó que concentraciones de 12.5 µg/mL no afectan el crecimiento de los fibroblastos.

Resumen

Hoy en día, el uso de nanopartículas con propiedades antimicrobianas se ha extendido al recubrimiento de superficies de dispositivos médicos e implantes. Con el desarrollo de la nanotecnología se han analizado los efectos de propiedades tales como morfología y tamaño de nanopartícula en la capacidad de inhibición bacteriana. En este estudio se sintetizaron nanopartículas de ZnO con diferentes morfologías y tamaños mediante el método sonoquímico, con variación de pH y adición de agentes quelantes durante

1. Introducción

El incremento en el número de investigaciones relacionadas con materiales semiconductores como Dióxido de Titanio (TiO₂) y ZnO, utilizados desde hace muchos años en la industria, se debe en gran parte al desarrollo de la nanotecnología. Hoy en día, mejoras en la instrumentación han permitido la caracterización de este tipo de materiales a escala nanométrica y atómica, logrando elucidar como los cambios en morfología y tamaño alteran sus propiedades fisicoquímicas; además del desarrollo de

nuevas rutas de síntesis como el uso de ultrasonido¹.

La síntesis de nanopartículas mediante ultrasonido es un método rápido y fácil, que permite la generación de nanopartículas con morfologías variadas². Durante el uso de ultrasonido, el medio de reacción, ya sea sólido, líquido o gaseoso, es irradiado con ondas de sonido que se comprimen y expanden, produciendo cavitaciones en el caso del medio líquido³. Fluctuaciones en la presión provocan la formación de burbujas, las cuales crecen hasta cierto tamaño y colapsan. Esto crea condiciones extremas en la interfaz gas/líquido, lo que libera energía luego de la implosión y produce temperaturas de 5000 K y presiones aproximadas de 1000 bar⁴. El vapor dentro de la burbuja puede descomponerse y formar radicales libres como H. y OH., los cuales pueden reaccionar con los solutos⁵. Para nanopartículas de óxidos metálicos, el uso de ultrasonido presenta algunas ventajas como tiempos cortos de síntesis y la capacidad de producir nanopartículas en soluciones acuosas, por lo que es método amigable con el ambiente. Además, debido a las microturbulencias que se dan en el medio, dicho método se utiliza para la dispersión de las nanopartículas en matrices poliméricas, formación de materiales compuestos⁶ y la inserción de nanopartículas en materiales cerámicos porosos con una distribución homogénea⁷.

El óxido de zinc (ZnO) es un material semiconductor y piezoelectrico usado en la fabricación de dispositivos de optoelectrónica, sensores, transductores y relacionados con biomedicina⁸. Por su absorción en la región ultravioleta, se adiciona en forma particulada a cremas cosméticas y bloqueadores solares

para la protección de la piel⁹. Además tiene efecto antimicrobiano contra bacterias como E. coli¹⁰ y baja toxicidad para el ser humano a bajas concentraciones¹¹.

La morfología de las nanopartículas puede influir en su internalización y en la cantidad de planos cristalinos polares del ZnO; a mayor número de planos cristalinos, mayor número de vacantes de oxígeno en la microestructura de los planos. Esto contribuye al incremento en la producción de radicales libres y por ende la capacidad bactericida de las nanopartículas¹. El siguiente estudio tiene como objetivo determinar el efecto de la morfología y el tamaño de nanopartículas sintetizadas por ultrasonido en el crecimiento de E. coli y la viabilidad celular de fibroblastos en contacto con diferentes concentraciones de nanopartículas de ZnO.

2. Parte experimental

2.1 Procedimiento para la síntesis de nanopartículas

Como precursor aniónico y catiónico para la síntesis de nanopartículas de ZnO, se utilizó nitrato de zinc hexahidratado ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, 98%, Aldrich) y hexametilentetramina (HMT, $(CH_2)_6N_4$, 99%, Junsei), respectivamente. Se utilizó polietilenglicol 8000-16000 g/mol como agente quelante. Las nanopartículas se sintetizaron mediante la mezcla de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (0.05 M) y HMT (0.05 M), con un tiempo de sonicación de 1 h. Con el fin de generar las distintas morfologías de las nanopartículas, se modificaron las condiciones de pH y la adición de agentes

quelantes. Para la síntesis de nano-flores, el pH fue ajustado a 9 con nitrato de amonio (Aldrich) al 30 % (método 1). Para la síntesis de bastones hexagonales, el pH se mantuvo en 7 (método 2). Para la síntesis de las nano-esferas, se utilizaron las mismas condiciones del método 1, pero se adicionó polietilenglicol al medio de reacción en una relación de 2 g por cada 300 mL de volumen de reacción (método 3). El volumen final de cada reacción fue de 300 mL.

Para la sonicación, se utilizó una sonda de titanio con un diámetro de ½ pulgada, una frecuencia de 20 kHz y una amplitud del 40%. Se hicieron ciclos de sonicación de 5 min continuos y 2 min de reposo. El nivel de agua se mantuvo constante durante el proceso mediante la adición de agua. La temperatura se mantuvo entre 40-50°C sumergiendo el frasco con la reacción en un baño de hielo. Al precipitado obtenido se le hicieron tres lavados con agua y etanol, precipitando entre cada ciclo con una microcentrífuga. Finalmente las partículas fueron secadas en una estufa a 60°C por 24 h.

2.2 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM).

La morfología de las nanopartículas fue analizada por un SEM XL30 FEG, en condiciones de ultravacío de 1×10^{-5} Pa y un voltaje de aceleración de 20 kV. Soluciones con una concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$ de nanopartículas en solución acuosa fueron dispersadas por 5 min en un baño ultrasónico, y 5 μL de esta solución se dejó secar sobre un portaobjetos de aluminio antes del análisis.

2.3 Difracción de rayos X (XRD)

Para la caracterización estructural y de composición de las nanopartículas sintetizadas se empleó un difractómetro Rigaku D/MAX 2100PC usando radiación Cu-K entre $5-90^\circ$ y una velocidad de barrido de $0.02^\circ/\text{s}$.

2.4 Evaluación de la inhibición del crecimiento de E. coli en contacto con las nanopartículas.

Se estudió la capacidad antimicrobiana de las nanopartículas de ZnO contra E. coli (cepa ATCC 25922). Se preparó una solución de 500 $\mu\text{g/mL}$ de nanopartículas en buffer de fosfato (PBS) estéril. La bacteria se colocó en 5 mL de medio Luria Bertani (LB), y se incubó a 37°C durante 24 h hasta llegar a la fase estacionaria (109 unidad de colonias formadoras, CFU/mL). Posteriormente el cultivo se centrifugó, se descartó el sobrenadante, y el pellet obtenido se lavó tres veces con una dilución 1:10 de medio LB en PBS. Finalmente, la bacteria fue diluida a una concentración de 106 CFU/mL.

Se prepararon soluciones de 500 $\mu\text{g/mL}$ de nanopartículas en la suspensión de bacterias. Para el análisis de inhibición del crecimiento según el tipo de morfología, las bacterias fueron incubadas a 37°C por 4 h. Para evaluar el efecto citotóxico de la concentración de las nanopartículas, las células se incubaron durante 20 h. Como controles negativos se utilizaron la solución de PBS, medio LB, medio mínimo, PBS/LB y nanopartículas (datos no publicados). El control positivo consistió en E. coli inoculada en medio mínimo.

Las pruebas se realizaron en una placa de 96 pocillos. 50 μ L de las soluciones fueron transferidas a la placa, y a cada pozo se le adicionó 50 μ L de medio LB. La placa multipozo se cubrió con una membrana sellante y se colocó en un lector de placas (Mithras LB 940, Berthold Technologies, Germany). Las mediciones de absorbancia fueron hechas por 24 h, a una longitud de onda de 620 nm usando el modo cinético de detección.

2.5 Evaluación de citotoxicidad de las nanopartículas de ZnO esféricas en contacto con fibroblastos

Fibroblastos de ratón L929 se incubaron en frascos de cultivo (TPP) con un área de 75 cm², a 37°C con 5% CO₂ y humedad controlada. Se utilizó medio RPMI 1640 con L-glutamina (Lonza), suplementado adicionalmente con 10% FBS (Biochrom AG), 100 U de penicilina (Lonza) y 100 μ g/mL de estreptomina (Lonza). Previo al proceso de tripsinización, se removió el medio del frasco de cultivo con una pipeta Pasteur, y se lavaron las células con 4 mL de buffer PBS (Sigma, concentración original de 10 \times). Se añadió 1 mL de tripsina (SAFC Biosciences, 1% en PBS), y se incubó el frasco hasta que hubo desprendimiento celular. Una vez desprendidas las células, se añadió 4 mL de medio de cultivo previamente calentado a 37°C al frasco de cultivo. Se homogenizó el medio con ayuda de una pipeta, y se determinó la concentración celular tomando una alícuota del cultivo y analizando mediante el Cellometer Auto T4 (Nexcelom Bioscience), de acuerdo al protocolo del fabricante. Finalmente, 3.6 \times 10⁶ células fueron transferidas a un nuevo frasco de cultivo junto con 20 mL de medio de cultivo fresco, y se incubó durante la noche.

Para la exposición de los fibroblastos a las nanopartículas, se realizó una pre-incubación por 24 h de 200 μ L de medio con una concentración de 5 \times 10⁴. Al día siguiente se reemplazó el medio por medio fresco, y se transfirió 160 μ L de cultivo celular a otra placa multipozos, a la que se añadió 40 μ L de la solución de nanopartículas. De esta solución, se realizaron diluciones seriadas transfiriendo 100 μ L de la mezcla hacia la siguiente columna a la derecha, y completando un volumen final de 200 μ L con medio fresco. Como control negativo se utilizó medio fresco, y como control positivo se utilizó una mezcla de medio fresco con HEMA. Las placas se incubaron durante 24 h, tras las cuales se realizó una tinción WST-1 bajo las especificaciones del fabricante. Posteriormente la placa fue leída con un espectrofotómetro (Berthold Technologies) a una longitud de onda de 450 nm.

3. Resultados

Los difractogramas de las nanopartículas muestran los picos característicos para el ZnO. La figura 1 muestra los picos a (2) 31.74°, 34.55°, 36.21°, 47.64°, 56.69°, 62.83° y 67.95° asignados a las líneas de difracción de (100),

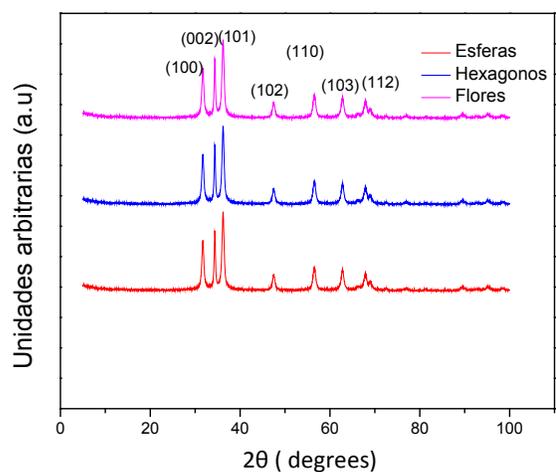


Figura 1. Difractograma de rayos X de nanopartículas de ZnO sintetizadas.

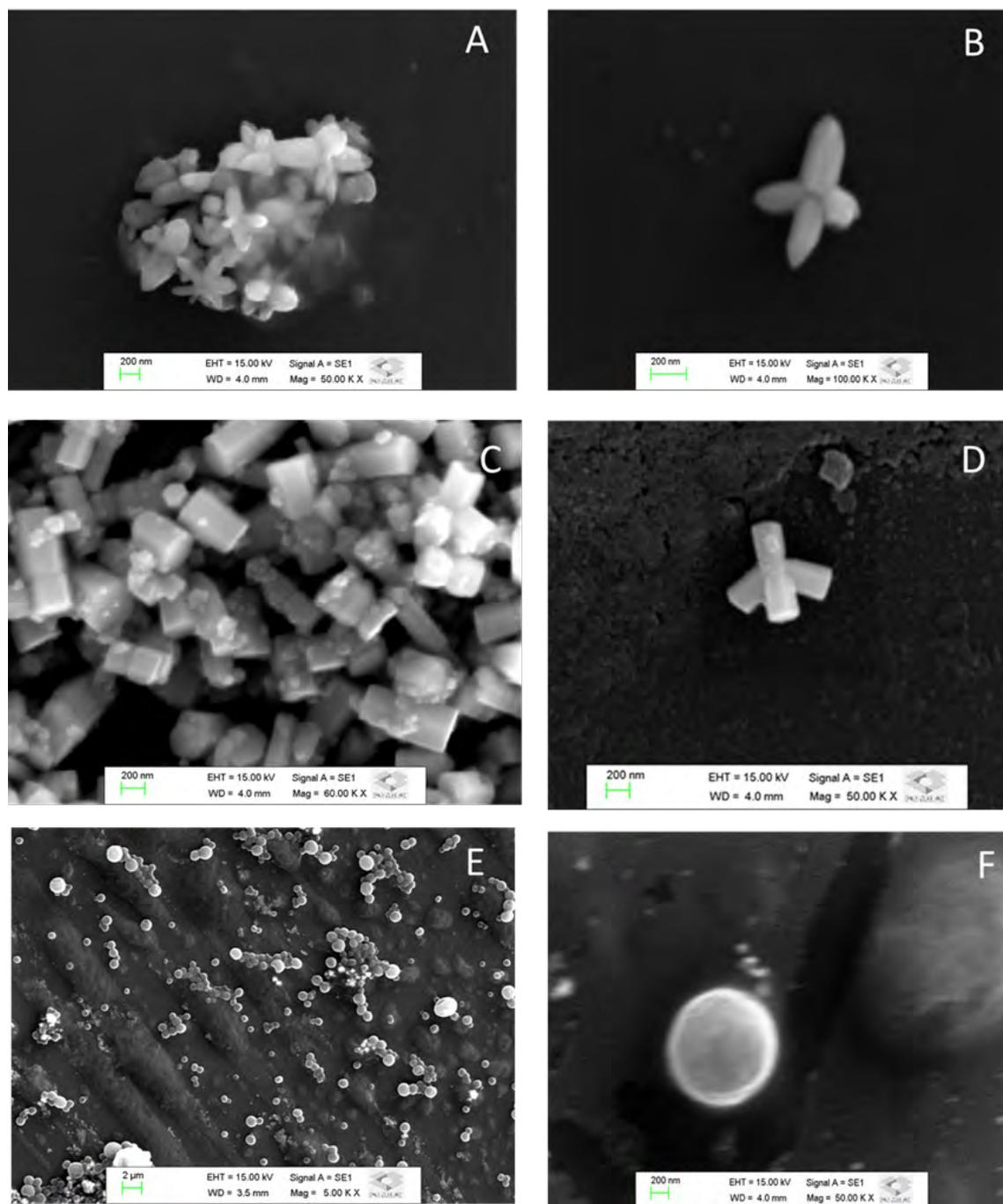


Figura 2. Micrografías electrónicas de barrido de las partículas sintetizadas. A y B) método I; C y D) método 2; E y F) método 3.

(002), (101), (102), (110), (103) y (112) del ZnO¹². También se muestran patrones similares para las partículas obtenidas en las diferentes condiciones de síntesis.

Las imágenes obtenidas por SEM de las partículas muestran morfologías esféricas, en forma de flores, y de bastones hexagonales según el método de síntesis (Figura 2). Se observa una morfología predominante de acuerdo con el método empleado; aglomerados de las partículas sintetizadas por el método 1, 2, 3 se muestran en la Figura 2 A, B y D, respectivamente. Las nanopartículas con morfología de bastones hexagonales tienen una longitud promedio de 679 ± 99 nm y cara lateral de 260 ± 20 nm, las esferas muestran una longitud de 840 ± 123 nm y las flores de 646 ± 26 nm. El esquema de la longitud medida se muestra en la figura 3.

El crecimiento preferencial en la dirección [0001] del ZnO se ha atribuido al eje polar del ZnO [0001]; dándose en condiciones de concentración moderada de aniones hidroxilo en el medio de reacción. El crecimiento en forma de bastones hexagonales es atribuido al crecimiento preferencial en la dirección [0001] a un pH moderado de 7. Al incrementar el pH, hay un incremento en la concentración de $(Zn(OH)_4^{2-})$, precursor del ZnO, alrededor de los primeros núcleos de ZnO. Lo anterior propicia un crecimiento en varias direcciones con respecto al eje central del núcleo y se atribuye a éstas condiciones la formación de flores. Por el contrario, la adición de polietilenglicol restringe el crecimiento en dirección radial con respecto al núcleo, favoreciendo la formación de esferas¹³.

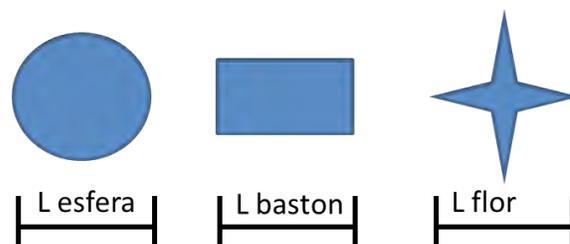


Figura 3. Esquema de cálculo de longitud de las nanopartículas de ZnO

En la figura 4 se muestra la curva de crecimiento de *E. coli* expuesto a las nanopartículas. *E. coli* exhibe un menor crecimiento al ser expuesto a las nanopartículas en forma de flor, en comparación con las morfologías de esfera o de bastones hexagonales (Figura 4A). Variaciones en la inhibición pueden ser atribuidas a la mayor área superficial presente en las nano-flores, que poseen menor tamaño con respecto a las demás nanopartículas¹⁴. La reducción de la fase logarítmica, en comparación con la bacteria no expuesta, puede ser asociada a una condición bacteriostática en el medio, causada por la presencia de nanopartículas. La influencia de la morfología se podría comparar si se obtuvieran partículas con similar área superficial promedio. En este caso se obtienen partículas con áreas superficiales diferentes.

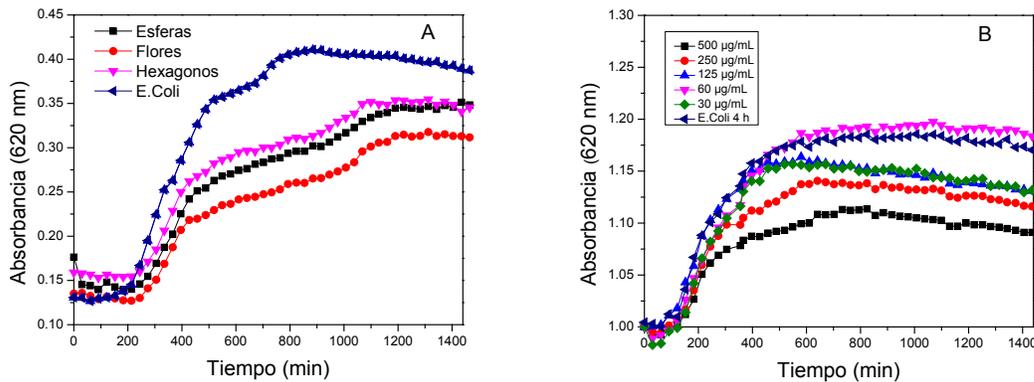


Figura 4. Curva de crecimiento de E. coli. A) Soluciones de 500 µg/mL de nanopartículas de ZnO con diferentes morfologías de E. coli en contacto por 4 h. B) Cinética de crecimiento de E. coli en contacto con diferentes concentraciones de nanopartículas esféricas de ZnO por 4 h.

La Figura 4B muestra el efecto de la concentración de nanopartículas en la inhibición del crecimiento de E. coli. Se observa una mayor reducción en la extensión de la fase logarítmica con el aumento en la concentración de nanopartículas esféricas. Los mecanismos relacionados con la actividad antimicrobiana han sido atribuidos a la formación de radicales libres por la actividad fotocatalítica del ani , a los iones de zinc liberados en el medio y al daño y/o desestabilización de la membrana celular al contacto con las nanopartículas¹⁵.

Se realizó el estudio de citotoxicidad de las nano-flores sobre los fibroblastos para determinar la concentración en la cual la viabilidad no se ve afectada por la presencia de nanopartículas. Se denota que a concentraciones de ZnO menores a 12.5 µg/mL no existe una diferencia significativa entre la viabilidad entre los fibroblastos expuestos y el control negativo. Se recomienda para futuros experimentos extender el tiempo de contacto a más de 4 h y una concentración de nanopartículas de 12.5 µg/ml.

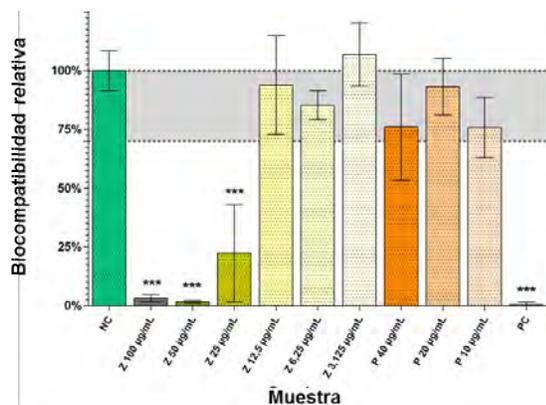


Figura 5. Viabilidad de fibroblastos expuestos a diferentes concentraciones de nano-flores de ZnO. NC: control negativo; PC: control positivo.

4. Conclusiones

Nanopartículas de ZnO con diferentes morfologías fueron sintetizadas usando el método sonoquímico, variando el pH y adicionando agentes quelantes como el polietilenglicol. Se obtuvieron nanopartículas con morfologías esféricas, de flor y bastones hexagonales, las cuales mantienen uniformidad en la morfología sintetizada. Las nanopartículas de ZnO muestran actividad antimicrobiana contra la bacteria *E. coli*, siendo la morfología en forma de flor y de menor tamaño la que provoca una mayor inhibición del crecimiento de la bacteria. Se recomienda hacer una comparación de la actividad antimicrobiana de nanopartículas de ZnO con una relación área superficial/masa de partícula similar, para determinar el efecto de la morfología e impedimento estérico entre el contacto de la célula y la partícula. La viabilidad de crecimiento de los fibroblastos L929 expuestos a concentraciones de ZnO menores a 12.5 µg/mL no se ve afectada. En futuros experimentos se realizará un estudio de tiempo de interacción.

Bibliografía

1. Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N.H.M., Ann, L.C., Bakhori, S.K.M., Hasan, H., and Mohamad, D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett.* 7, 219–242.
2. Gedanken, A. (2004). Using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials. *Ultrason. Sonochem.* 11, 47–55.
3. Bang, J.H., and Suslick, K.S. (2010). Applications of Ultrasound to the Synthesis of Nanostructured Materials. *Adv. Mater.* 22, 1039–1059.
4. Suslick, K.S., Doktycz, S.J., and Flint, E.B. (1990). On the origin of sonoluminescence and sonochemistry. *Ultrasonics* 28, 280–290.
5. Morya, N.K., Iyer, P.K., and Moholkar, V.S. (2008). A physical insight into sonochemical emulsion polymerization with cavitation bubble dynamics. *Polymer* 49, 1910–1925.
6. Palumbo, M., Henley, S.J., Lutz, T., Stolojan, V., and Silva, S.R.P. (2008). A fast sonochemical approach for the synthesis of solution processable ZnO rods. *J. Appl. Phys.* 104, 74906.
7. Klemperer, D., and Frisch, K. (2001). *Advances in urethane science and technology* (Shawbury, Shrewsbury, Shropshire: Rapra Technology Limited).
8. Wang, Z.L. (2004). Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. *J. Phys. Condens. Matter* 16, R829–R858.
9. Serpone, N., Dondi, D., and Albini, A. (2007). Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and sun care products. *Inorganica Chim. Acta* 360, 794–802.

10. Corrales, Y.R., Bettini, S.H.P., Muñoz, P.R., Wittig, L., Rischka, K., and Lisboa-Filho, P.N. (2015). In situ sonochemical synthesis of ZnO particles embedded in a thermoplastic matrix for biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. C* 49, 58–65.
11. Moosavi, R., Abbasi, A.R., Yousefi, M., Ramazani, A., and Morsali, A. (2012). Ultrasound-assisted coating of polyester fiber with silver bromide nanoparticles. *Ultrason. Sonochem.* 19, 1221–1226.
12. KhorsandZak, A., Majid, W.H. abd., Wang, H.Z., Yousefi, R., Moradi Golsheikh, A., and Ren, Z.F. (2013). Sonochemical synthesis of hierarchical ZnO nanostructures. *Ultrason. Sonochem.* 20, 395–400.
13. Jung, S.-H., Oh, E., Lee, K.-H., Yang, Y., Park, C.G., Park, W., and Jeong, S.-H. (2008). Sonochemical Preparation of Shape-Selective ZnO Nanostructures. *Cryst. Growth Des.* 8, 265–269.
14. Xie, Y., He, Y., Irwin, P.L., Jin, T., and Shi, X. (2011). Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Zinc Oxide Nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 2325–2331.
15. Ivask, A., Juganson, K., Bondarenko, O., Mortimer, M., Aruoja, V., Kasemets, K., Blinova, I., Heinlaan, M., Slaveykova, V., and Kahru, A. (2014). Mechanisms of toxic action of Ag, ZnO and CuO nanoparticles to selected ecotoxicological test organisms and mammalian cells in vitro : A comparative review. *Nanotoxicology* 8, 57–71.

Nuevas técnicas en el desarrollo de vacunas

Autores: Mariángela Hernández-Bloise¹, Emanuel Alfaro-Xatruch¹, Ramsés Alfaro-Mora, PharmaD²

Afiliación: 1.Estudiante Escuela de Farmacia, Universidad Latina de Costa Rica.
3.Docente Cátedra de Química Medicinal, Escuela de Farmacia Universidad Latina de Costa Rica.

Correspondencia: Escuela de Farmacia, Universidad Latina de Costa Rica, Sede San Pedro. Tel +506 2207-6000

Email: ramses.alfaro@ulatina.net

Conflicto de interés: Ninguno

antígenos específicos con los que se logra producir anticuerpos protectores y ocasionar inmunidad.

Palabras claves: vacunología, antígenos, anticuerpos, genoma

Introducción

Las vacunas son una de las intervenciones médicas más acertadas en la historia humana, en esencia la vacunación busca convencer al sistema inmunológico de tratar un patógeno no infeccioso, como una invasión patogénica y levantar una respuesta inmune que llegara a proteger de una futura infección.¹ La vacunación inmejorablemente induce una respuesta inmune igual o mejor que la causada por una infección natural. Por consiguiente la inmunidad a largo plazo contra un patógeno puede ser obtenida, previniendo al individuo de la enfermedad así como de transmitir el agente causal.

Las vacunas salvan millones de vidas cada año y constituyen una de las más seguras y efectivas intervenciones en salud pública, proporcionando beneficios sobre el control y la prevención de enfermedades, así como también conllevan a beneficios sociales y económicos. La efectividad expresada por

Resumen

La vacunología se implementó para prevenir la naturaleza infecciosa, la transmisión, el ciclo reproductivo y la infección por medio de la inmunogenicidad que la vacuna induce al generar una respuesta específica en el organismo. El auge de la tecnología en el desarrollo de vacunas genera nuevos métodos en los cuales la inoculación del microorganismo muerto no es necesario ya que por medio de los avances científicos se ha logrado identificar que partes específicas del microorganismos como la secuenciación del genoma, el ADN del patógeno, la capa exterior de ciertas bacterias y el aislamiento de componentes específicos son primordiales para el descubrimiento de

el comportamiento de una vacuna sobre el terreno depende de la capacidad inmunitaria del receptor (anticuerpo) para el cual fue diseñada, del tipo de vacuna (atenuada, inactivada, toxoide, etc.), de su disponibilidad, tolerabilidad y estabilidad, o del adecuado cumplimiento de las dosis pautadas.²

El objetivo de la presente revisión es investigar el desarrollo de vacunas a través de la implementación de nuevas técnicas, brindando beneficios en salud, efectividad y seguridad al paciente.

La Evolución de la Vacunología

La vacunación comenzó cuando Eduardo Jenner en 1796 experimento raspando las ampollas llenas de pus en las manos una lechera infectada de la viruela vacuna. Desde entonces, la ciencia de las vacunas ha recorrido un largo camino, desde el uso de patógenos inactivados o toxinas y patógenos vivo atenuados para vacunas recombinantes de subunidades y glucoconjugadas y más recientemente hacia el diseño centrado en el epítipo de los patógenos.³

La efectividad lograda por las vacunas con patógenos inactivados o atenuados es y sigue siendo la mejor solución disponible contra muchas enfermedades como el sarampión, las paperas y la varicela. Las vacunas han dado lugar a la completa o casi completa erradicación de devastadoras enfermedades como la viruela y la poliomielitis. A pesar de la probada eficacia en muchos casos, los patógenos inactivados no generan siempre una protección adecuada, y los patógenos atenuados tienen problemas de seguridad causados por posibles mutaciones inversas. Vacunas vivas atenuadas también plantean un mayor riesgo para los sujetos

inmunodeprimidos que pueden no ser capaces de responder adecuadamente para limitar la infección.⁴

En la década de 1970, vacunas glucoconjugadas y recombinante revolucionaron el campo permitiendo el desarrollo de vacunas más seguras y más eficaces, ya que permitieron la activación de células T de manera tan eficiente que sostuvieron la inmunidad a largo plazo.⁷ Estos avances se centraron no solo en luchar contra enfermedades contra las cuales no había vacunas disponibles, sino en mejorar las ya existentes proporcionando respuestas inmunitarias más fuertes, amplias, duraderas y seguras que pudieran reducir el número de dosis y emplear vías de administración más cómodas.⁵

El desarrollo y optimización de nuevas tecnologías en el proyecto genoma humano ha logrado la completa automatización de técnicas de secuenciación del ADN, lo que conllevó a completar el conocimiento de los genomas de numerosos microorganismos. El auge de la informática, ha hecho posible en estos últimos años, grandes avances en el estudio de la información genética, permitiendo el análisis de genomas en tiempos cortos por lo que se ha permitido descubrir nuevos antígenos que no habían podido ser encontrados por las técnicas convencionales.⁶

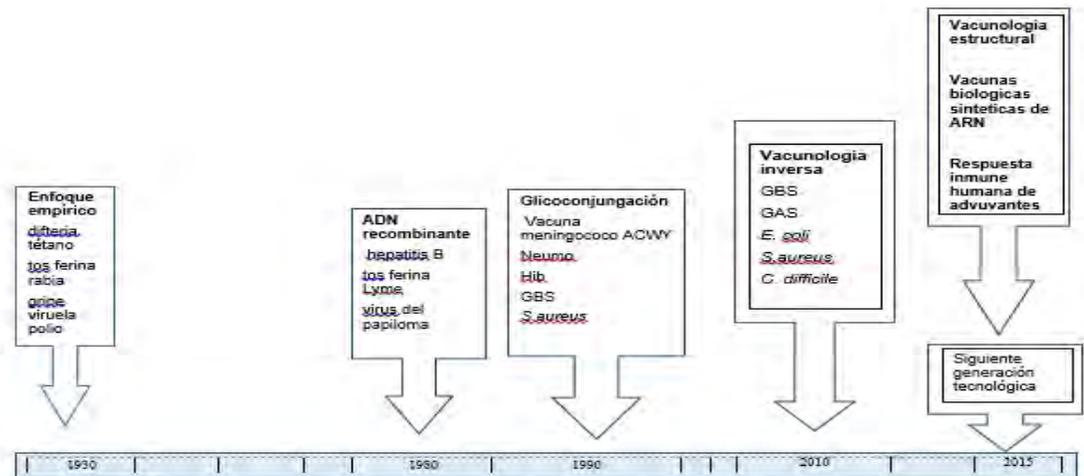


Figura 1. Crecimiento e innovación de vacunas durante último siglo. Modificado de Dormitzer, 2008¹⁰.

Nuevas estrategias para el desarrollo de vacunas.

Con el pasar de los años la visión sobre cómo se deben dar las nuevas tecnologías para el desarrollo de vacunas ha abierto un campo totalmente novedoso e inclusivo de las diferentes ciencias biológicas. Desde Pasteur, se han desarrollado vacunas utilizando enfoques empíricos que consisten principalmente en microorganismos muertos o vivos atenuados, componentes purificados de patógenos enteros (vacunas de subunidades), toxinas o polisacáridos. Desde la década de 1980, las nuevas tecnologías han hecho vacunas más complejas. Tecnologías tales como ADN recombinante, glucoconjugación de polisacáridos, vacunología inversa y secuenciación de nueva generación junto con la biología sintética están allanando el camino para el futuro del desarrollo de una vacuna (ver Figura 1)

a) Aproximación empírica

Observaciones empíricas iniciales dieron lugar al origen de la vacunación, este concepto primero fue investigado por el conocido médico Edward Jenner a finales del siglo XVIII. Jenner fue el creador de la primera vacuna exitosa contra la viruela después de mostrar que material infeccioso inoculado en el brazo de un joven podría impedir que el joven adquiriera una enfermedad mortal. Casi un siglo más tarde, Louis Pasteur (1885), un químico francés de renombre mundial y biólogo, también considerado al padre de la inmunología, se introduce en la práctica de la inmunización, conocida por sus principios de “aislar, inactivar e inyectar.”¹¹ Pasteur es particularmente renombrado por su trabajo sobre la vacuna contra el ántrax (una infección bacteriana que fue diezmando rebaños de ovejas en el tiempo) y rabia (una infección viral altamente contagiosa que ataca el sistema nervioso central). Pasteur fue capaz de producir en forma atenuada el virus, que luego utilizó para la inmunización¹²

b) Vacunas tradicionales.

Hay cuatro tipos de vacunas tradicionales. (1) Vacunas que contienen microorganismos muertos, éstos son microorganismos previamente virulentos que han sido asesinados con productos químicos o calor. Ejemplos son las vacunas contra la gripe, cólera, peste bubónica y la hepatitis A. (2) Las vacunas que contienen microorganismos vivos, atenuados, que han sido cultivadas bajo condiciones que deshabilitan sus propiedades virulentas o que utilizan organismos estrechamente relacionados pero menos peligrosos para producir una respuesta inmunitaria amplia. Por lo general provocan respuesta inmunológica más duradera y son el tipo preferido para adultos sanos. Los ejemplos incluyen fiebre amarilla, sarampión, paperas y rubéola. (3) Las vacunas basadas en toxoide se derivan de compuestos tóxicos inactivados en los casos donde estos (en lugar del propio microorganismo) causa

enfermedad. Son ejemplos de vacunas basadas en toxoide tétanico y la difteria. (4) vacunas de subunidades, en lugar de introducir un microorganismo atenuado o inactivado al sistema inmune, un fragmento purificado de los patógenos puede crear una respuesta inmune¹³.

c) Las vacunas de núcleos ácidos.

Un nuevo tipo de vacuna, creado a partir de ADN del patógeno, llamada vacuna de ADN. Trabaja por la inserción de ADN viral o bacteriana (y de expresión, activación de reconocimiento del sistema inmune) en células humanas o animales¹⁴. Ha sido probado y aplicado contra varios antígenos de patógenos y tumores. En teoría, esta vacuna es conceptualmente un método simple y seguro para inducir inmunidad

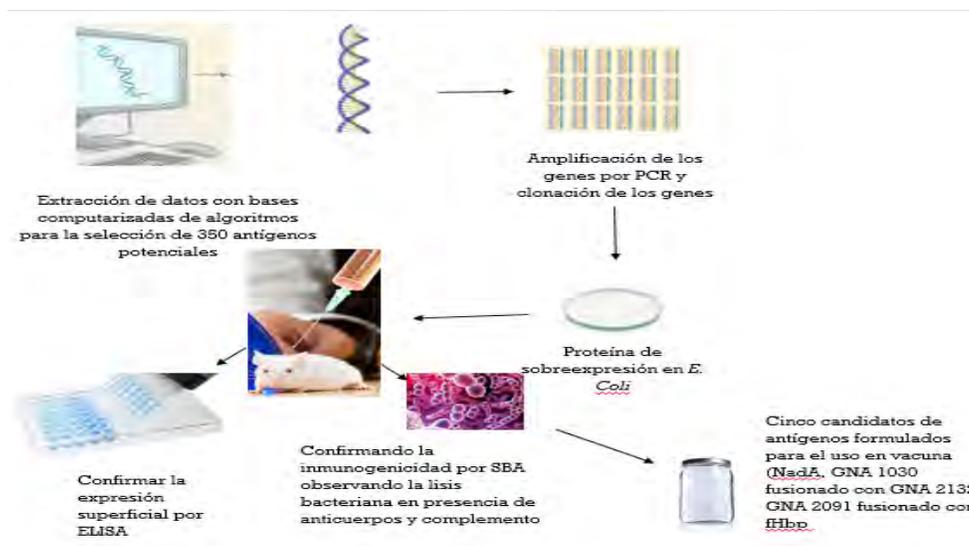


Figura 2: Técnica de vacunología inversa. Fuente: Elaboración propia.

no sólo humoral sino inmunidad celular también. Una ventaja de vacuna ADN es que son muy fáciles de producir y almacenar. A pesar de la gran promesa, esta tecnología aún no se logra trabajar en los seres humanos.

d) Vacunas Conjugadas

Las vacunas conjugadas consisten en polisacáridos bacterianos unidos a través de un enlace covalente a una proteína portadora, han tenido un gran impacto en los esquemas de vacunación infantil, disminuyendo dramáticamente la incidencia de infecciones bacterianas. Estas vacunas logran inducir respuesta protectora antipolisacáridos en la población infantil y por ende una memoria inmunológica. Para obtener una vacuna conjugada es importante tener en cuenta un grupo de parámetros como el tamaño del polisacárido, la selección de la proteína portadora, el método de conjugación y las propiedades del conjugado que se va a utilizar, ya que esto en algunos casos determina la inmunogenicidad del producto.⁹

Un número de innovadoras vacunas bacterianas también está en desarrollo y en uso. Ciertas bacterias tienen capas externas de polisacárido que son poco inmunogénicas. Al relacionar estas capas externas con proteínas (por ejemplo, toxoides), el sistema inmune puede ser conducido para reconocer el polisacárido como si fuera un antígeno de la proteína. Se utiliza este enfoque de conjugar polisacáridos capsulares a moléculas de portador de *Haemophilus influenzae* tipo B y la vacuna de *Streptococcus pneumoniae* y de las vacunas *meningococcus*. Son excelentes herramientas para prevenir la morbilidad de la niñez y la mortalidad¹⁵.

e) Vacunología de genomas revertibles o Vacunología Inversa

Enfoques convencionales para el desarrollo de vacunas, como se describió anteriormente, se basan en el cultivo de los microorganismos in vitro, y sólo abundantes componentes pueden aislarse mediante métodos bioquímicos y microbiológicos¹⁶. Con el advenimiento de la secuenciación del genoma completo y los avances en Bioinformática, el campo de la vacunología ha cambiado radicalmente, proporcionando la oportunidad para el desarrollo de nuevas y mejores vacunas. Con esta poderosa tecnología se propuso un nuevo enfoque para identificar a candidatos de vacuna sobre la base de la información genómica; Este enfoque se denominó “vacunología inversa”.

Una de las ventajas que posee es que, gracias a la disponibilidad de la secuencia de los genomas de muchos microorganismos de importancia en salud humana y animal se han podido descubrir nuevos antígenos que no se encuentran mediante los métodos tradicionales. Además, actualmente se pueden identificar numerosos antígenos potenciales para el desarrollo de vacunas, sin necesidad de cultivar en el laboratorio al agente causante⁷. La novedad de la vacunología inversa está basada en la ejecución de algoritmos para extraer información de la secuencia de ADN contenida en el plan de acción de la bacteria¹⁶.

Como se analiza en la figura 2 la técnica requiere de la selección de los candidatos vacunales, posteriormente la secuencia de los genes que los codifican son amplificados mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para posteriormente ser clonados, expresados y purificados como proteínas recombinantes que serán utilizadas en la inmunización de animales de experimentación para finalmente, ser evaluados en cuanto a la capacidad de inducir respuesta inmune protectora.⁸

Tecnologías de próxima generación apoya la investigación mediante la obtención de información de nivel atómico sobre antígenos claves y sus epitopos, solos o en conjunto con anticuerpos protectores. Esto permite el uso del diseño basado en estructura y modificar antígenos inmunológicos¹⁷.

La evolución de la investigación empírica simple a complejas tecnologías innovadoras ha apoyado el desarrollo de nuevas vacunas que ofrecen promesa para respuestas rápidas en la disminución de la morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas. Por otra parte, un estudio reciente concluyó que la vacunación durante un periodo de 50 años impidió 40 millones de casos de difteria, 35 millones de casos de sarampión y un total de 103 millones de casos de enfermedades de la infancia, el resultado final es que en el último siglo la esperanza de vida en los Estados Unidos ha aumentado de 43.7 a 78,7 años¹⁸. A través de la asignación de recursos, gran pasión de la comunidad científica y las innovaciones tecnológicas, las vacunas han contribuido a mejorar la salud del mundo, aunque las vacunas no son la única intervención responsable del aumento en la esperanza de vida.

Conclusiones

La vacunología ha generado un avance en el conocimiento de la inmunología, lo que ha facilitado contrarrestar una serie de enfermedades infecciosas de etiología vírica que en algún momento fueron dañinas para el hombre o los animales. De igual manera en la actualidad se vive una serie retos que buscan mejorar las técnicas de desarrollo de vacunas existentes.

Gracias a elucidación de nuevos genomas virales, como bacterianos y en algunos casos hasta parasitarios, se ha logrado identificar diferentes blancos para el desarrollo de nuevas vacunas. Esto favorece y mejorara el abordaje de las diferentes patologías capaces de ser tratadas por esta técnica.

Referencias

1. Rappuoli, E. De Gregorio and R. From empiricism to rational design: a personal perspective of the evolution of vaccine development. *Nature Reviews Immunology*, 2014: 505–514.
2. Tuells, Josue. Controversias sobre vacunas, una oportunidad para la vacunología social *Gaceta sanitaria*, 2015: 1.
3. R. Cozzi, M. Scarselli, and I. Ferlenghi. Structural vaccinology: a three-dimensional view for vaccine development. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2013: 2629–2637
4. Gregorio, R. Rappuoli and E. De. A sweet T cell response. *Nature Medicine*, 2011:1551-1552
5. Romo, J.J. Picazo y F. González. Futuro en el desarrollo de vacunas. *Revista Española Quimioterapia*, 2007: 371- 374.
6. Porco, Joylineth Ferreira y Antonieta. Vacunas derivadas del análisis de genomas: Vacunología inversa. 2008: 354.
7. Tuells, Josue. Controversias sobre vacunas, una oportunidad para la vacunología social *Gaceta sanitaria*, 2015: 1
8. Corona., Daniel Yero. De la secuencia de un genoma bacteriano a la identificación de candidatos vacunales. 2006: 23-24
9. Chang, Janoi. Caracterización de conjugados inmunogénicos de polisacárido. *Vacci Monitor*, 2011: 15.
10. Dormitzer, PR, Ulmer JB, Rappuoli R. Structurebased antigen design: a strategy for next generation vaccines. *Trends Biotechnol.*, 2008: 659– 667.
11. Rappuoli, R. Bridging the knowledge gaps in *Nat. Biotechnol.* 2007: 1361 – 1366.
12. Centers, for Disease Control (CDC). A centennial celebration: Pasteur and the modern era of immunization. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep*, 1985: 389– 390.
13. Plotkin, SA. Vaccines: past, present and future. *Nat Med*, 2005: 5-11.
14. Ulmer, JB, Rappuoli R. DNA vaccination. *Hum. Genet.*, 2003: 2-13.
15. Trotter, CL, McVernon J, Ramsay ME, Whitney CG,. Optimising the use of conjugate vaccines to prevent disease caused by *Haemophilus influenzae* type b, *Neisseria meningitidis* and *Streptococcus pneumoniae*. SAGE subgroup, 2008: 4434-4445
16. Rappuoli, R, Covacci A. Reverse vaccinology and genomics. *Science*, 2003: 302-602.
17. Dormitzer, PR, Ulmer JB, Rappuoli R. Structurebased antigen design: a strategy for next generation vaccines. *Trends Biotechnol.*, 2008: 659– 667
18. Van, Panhuis, WG, et al. Contagious

Efectos tóxicos de la radiación y su abordaje terapéutico

Autores: Victoria Paula César¹, Adrián Vargas-Arias, PharmaD^{2,3}

Afiliación: 1. Estudiante Escuela de Farmacia, Universidad Latina de Costa Rica. 2. Docente Departamento de Farmacología, Farmacoterapia y Toxicología, Escuela de Farmacia Universidad Latina de Costa Rica. 3. Representante Médico, Franquicia Sistema Nervioso Central, Pfizer América Central y Caribe.

Correspondencia: Escuela de Farmacia, Universidad Latina de Costa Rica, Sede San Pedro. Tel +506 2207-6000

Email: adrian.vargas4489@gmail.com

Conflicto de interés: Ninguno

ionizante, pueden afectar al cuerpo humano de diversas maneras, provocando tanto daños directos como indirectos sobre las moléculas biológicas. La presente revisión abarca diferentes conceptos relacionados a los daños inducidos por la radiación, los agentes radio-protectores utilizados y los diferentes tratamientos usados posterior a la exposición a niveles elevados de radiación.

Palabras clave: radiación ionizante, radio-protectores, radioterapia, síndrome de radiación aguda.

Resumen

Actualmente, las radiaciones ionizantes tienen una amplia variedad de aplicaciones beneficiosas en campos tan diversos como la medicina, la biología, la física, la astronomía, la ingeniería, entre otros. Sin embargo, a medida que aumenta el uso de las radiaciones ionizantes también lo hacen los posibles peligros para la salud, en la medida que no se utilicen o contengan de manera adecuada. La radiación

Introducción

La radiactividad se puede definir como una propiedad de los núcleos inestables de algunos elementos, basada en un fenómeno de emisión de rayos o radiaciones.¹

Las radiaciones se clasifican en dos tipos: radiaciones no ionizantes (las de naturaleza electromagnética como la luz, ondas de radio, microondas, ultravioleta, láser y las de naturaleza mecánica como el ultrasonido) y radiaciones ionizantes (como los rayos X, rayos gamma, las emisiones radiactivas y las producidas por los aceleradores de partículas).²

La radiación no ionizante por lo general no produce daño a los tejidos, mientras que la radiación ionizante produce efectos químicos inmediatos en los tejidos humanos.³

La radiación presenta gran variedad de usos en campos tan diversos como la medicina, la biología, la física, la astronomía, la ingeniería, entre otros. De hecho, la radiación ionizante es una forma ampliamente aceptada de tratamiento para varios tipos de cáncer, ya sea sola o en combinación con otros tratamientos.^{4,5,6,7,8}

Sin embargo, a pesar de los muchos usos prácticos que tiene la radiación ionizante, la exposición a altos niveles de radiación tiene consecuencias letales.⁴

El objetivo de la presente revisión bibliográfica es describir los efectos tóxicos de la radiación, los diferentes agentes radioprotectores que se utilizan en la actualidad y las medidas terapéuticas empleadas en caso de exposición a la radiación.

Tipos de exposición a la radiación

La exposición a la radiación puede ser interna o externa, pudiendo tener lugar por diferentes vías. La exposición interna a la radiación ionizante se produce cuando un radionúclido es inhalado, ingerido o entra de algún otro modo en el torrente sanguíneo (por ejemplo, inyecciones o heridas). Este tipo de exposición cesa cuando el radionúclido se elimina del cuerpo, ya sea espontáneamente o gracias a un tratamiento. Por otra parte, la exposición externa se puede producir cuando el material radiactivo se encuentra

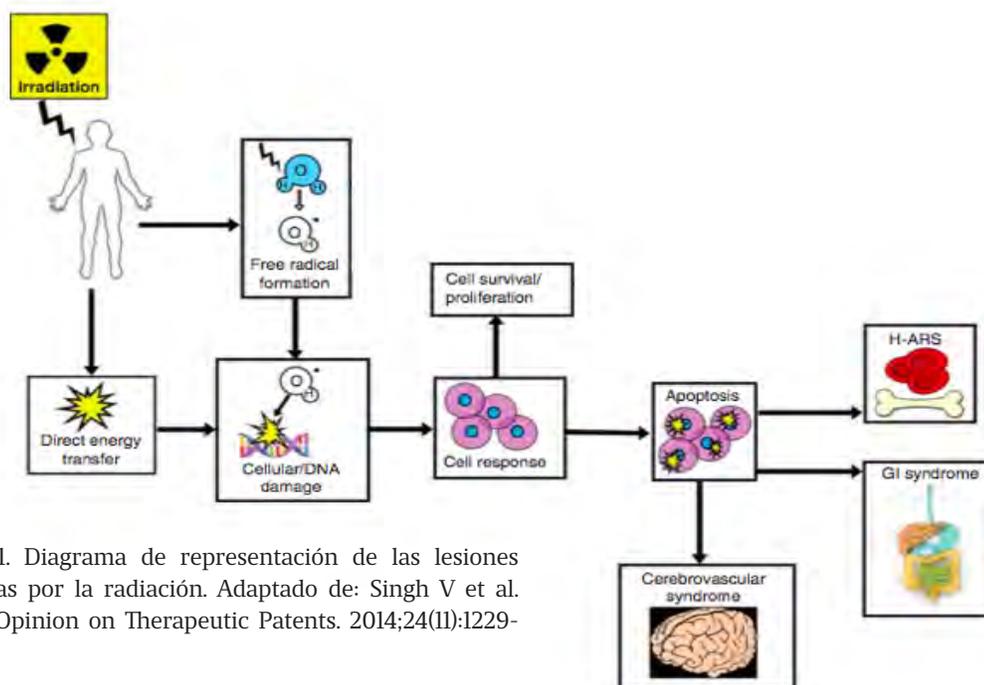


Figura 1. Diagrama de representación de las lesiones inducidas por la radiación. Adaptado de: Singh V et al. Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2014;24(11):1229-1255.

presente en el aire y llega a depositarse sobre la piel o la ropa. Generalmente, este tipo de material radiactivo puede eliminarse del organismo por simple lavado.⁹

La exposición puede además clasificarse en accidental o intencional, un claro ejemplo de exposición intencional es la radioterapia, ampliamente utilizada para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.³

Por último, la exposición a la radiación se puede presentar de forma aguda, como una exposición alta y única, o crónica como una serie de pequeñas exposiciones distanciadas en el tiempo.³

Daños inducidos por la radiación

El grado de lesión o daño que causa la radiación en los órganos y tejidos dependerá de la dosis recibida o absorbida, que se expresa mediante el Sistema Internacional de Unidades en Gray (Gy), y el intervalo de tiempo de dicha dosis. El daño que puede producir una dosis absorbida dependerá, no solo del tipo de radiación sino también de la proporción de cuerpo irradiado y de la sensibilidad de los diferentes órganos y tejidos a ésta.^{5,9}

Las lesiones por radiación implican cambios morfológicos y funcionales que ocurren en tejidos no cancerosos o “normales” como resultado de la radiación ionizante.⁵

Las células corporales más sensibles a la radiación son aquellas que son inmaduras, indiferenciadas y altamente proliferativas.^{5,10} Los sistemas de órganos más radio-sensibles son la médula ósea, los sistemas reproductivo y gastrointestinal, la piel, los músculos y el cerebro.⁵

La radiación ionizante genera tanto daños directos como indirectos a las moléculas biológicas.^{4,10,11}

En la radiación de alta transferencia de energía lineal, como neutrones y partículas alfa, la mayor parte del daño celular resulta de la ionización directa de macromoléculas celulares incluyendo ADN, ARN, lípidos y proteínas. Por el contrario, en la radiación de baja transferencia de energía lineal, como los rayos X y rayos gamma, los daños se producen de manera indirecta después de la generación de especies reactivas de oxígeno.⁴

El cuadro clínico de la exposición a la radiación se ha denominado como Síndrome de Radiación Aguda (SRA) que deriva de una exposición parcial o total del cuerpo a una dosis relativamente alta entregada a una tasa de dosis relativamente alta. Además se habla de Efectos Diferidos de la Exposición a Radiación Aguda (DEARE) que consisten en síndromes que ocurren meses o años después de la exposición a la radiación.⁴

Mecanismos de toxicidad por radiación

La exposición de las células a la radiación da lugar a una variedad de mecanismos de muerte celular, que incluyen necrosis,

apoptosis o autofagia. Además, la radiación puede inducir senescencia celular acelerada, un estado en el que la célula permanece viable pero con funciones alteradas y que ya no es competente para la proliferación.^{4,11}

Aunque el proceso de selección que resulta en un modo específico de muerte celular o senescencia aún no ha sido dilucidado, se sabe que se ve afectado por varios factores que incluyen el tipo de célula, la dosis y la calidad de la radiación, la tensión del oxígeno, el estado de mutación p53, la capacidad de reparación del ADN, el estado Redox y la fase del ciclo celular en el momento de la exposición a la radiación ionizante.^{4,11}

La apoptosis o muerte celular programada, es un tipo de muerte celular altamente regulado, que tiene un papel fundamental en la eliminación de células no deseadas, dañadas o anormales.

Dependiendo de la dosis y del tipo de célula, la radioterapia puede causar apoptosis a través de la vía del estrés de membrana, la vía intrínseca y la vía extrínseca. La vía extrínseca es activada por señales extracelulares transducidas por “receptores de muerte” transmembrana, mientras que la vía intrínseca, se inicia por vías de señalización desde el interior de la célula que gobiernan la integridad mitocondrial.^{4,11}

Por otra parte, la necrosis es una vía de muerte celular tumoral que predomina en respuesta a dosis extremadamente altas de radiación, mientras que a dosis más bajas, se ve a menudo como un acontecimiento accidental, no regulado. Este tipo de muerte

celular se asocia con una mayor inflamación del tejido normal circundante a la zona irradiada.^{4,11}

La catástrofe mitótica, por su parte ocurre después de una mitosis fallida, actuando como un mecanismo oncosupresivo para evitar la inestabilidad genómica.¹¹

La senescencia, en cambio, es una forma irreversible de detención del crecimiento, es decir que detiene la proliferación del envejecimiento metabólico activo y las células dañadas, impidiendo así la transmisión del material genético dañado a las células hijas.¹¹

Por último, la autofagia es un mecanismo de muerte celular programada caracterizado por la segregación de componentes del retículo endoplásmico (RE) y citoplásmico dañados o no deseados, en autofagosomas destinados a la degradación lisosomal. El RE inicia la señalización en respuesta a las proteínas dañadas, con lo cual la autofagia se destaca por su papel en el mantenimiento de la homeostasis metabólica en células tumorales sometidas a hipoxia crónica y agotamiento de nutrientes.^{4,11}

En la Figura 2 se muestran las diferentes respuestas moleculares a la radiación ionizante en células expuestas.

L-carnitina en el manejo de los efectos secundarios de la radioterapia

El síntoma más común relacionado a la aplicación de radioterapia en pacientes con cáncer es la fatiga. Aunque otros efectos secundarios comunes incluyen náusea, pérdida del cabello, irritación cutánea, anemia, infertilidad, enfermedad cardiovascular, deterioro cognitivo e incluso el desarrollo de otros tipos de cáncer.⁷

Un mecanismo que contribuye a la fatiga relacionada con el cáncer implica anomalías en la síntesis de adenosina trifosfato (ATP) causadas por la deficiencia de carnitina (butirato de 3-hidroxi-4-N-trimetilamonio), un cofactor esencial en el metabolismo de los ácidos grasos, que participa en la transferencia y regulación del transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial interna para ser oxidados a través de β -oxidación.⁷

Dado que el metabolismo de la carnitina se ve muy perturbado en pacientes con cáncer en radio-quimioterapia, se ha encontrado que la administración de L-carnitina es beneficiosa para reducir los efectos adversos inducidos por la radiación. El tratamiento con L-carnitina atenuó significativamente los cambios morfológicos inducidos por la radiación y la apoptosis de células germinales en el testículo de las ratas irradiadas un estudio realizado.^{7,8}

La L-carnitina redujo significativamente la gravedad del daño cerebral y de la retina, disminuyendo los niveles de malondialdehído y aumentando la actividad de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa y catalasa en las ratas. En otro estudio realizado en ratas, demostró ejercer una protección significativa contra la nefrotoxicidad inducida por radiación.⁷

Adicionalmente, en un estudio en cobayos, la L-carnitina mostró prevenir el daño coclear después de la irradiación craneal total.⁷ Teniendo claro que no hay estudios concluyentes en humanos y que la FDA no ha aprobado su uso en casos de sobredosis de radiación, éstos estudios demuestran que hay una opción viable de tratamiento para los pacientes que lleguen a sufrir un SRA.

Agentes radio-protectores

Un agente radio-protector se define como cualquier agente que proteja contra el daño inducido por radiación, ya sea que se administre antes, durante o después de la irradiación.¹³

Aunque, algunos autores prefieren utilizar el término radio-protector solo para referirse a aquellos agentes que son administrados antes de la radioterapia, para la profilaxis del tejido normal.^{6,14}

También se utilizan los términos: agentes profilácticos, para referirse a los agentes que se administran antes de la exposición a la radiación para evitar daños; agentes mitigadores, para referirse a los agentes que se administran durante o después de la exposición a la radiación con el fin de prevenir o reducir la acción de la radiación sobre los tejidos antes de que aparezcan los síntomas y agentes terapéuticos, para referirse a los agentes que se administran después de la exposición a la radiación para tratar o facilitar la recuperación en diversos aspectos del síndrome de radiación aguda y los efectos retardados de la exposición a la radiación.^{6,13}

Los compuestos de tiorina son los radio-protectores más eficaces y más estudiados. Dentro de este grupo de compuestos se encuentra el Etyolá (Amifostina), un tiorina sintético eliminador de especies reactivas de oxígeno, aprobado por la FDA como agente citoprotector. Se trata de un profármaco, que luego de ser desfosforilado por la fosfatasa alcalina en los tejidos, tiene la capacidad de proteger diferencialmente los tejidos normales con respecto al tejido tumoral. Aunque sus usos autorizados se han limitado a dos indicaciones: para reducir la xerostomía que resulta de la lesión de las glándulas salivales en pacientes sometidos a radioterapia para el tratamiento de cánceres de cabeza y cuello; y para la citoprotección del epitelio oral irradiado y la prevención de la mucositis oral. Este compuesto no sólo reduce la muerte celular sino que parece proteger contra la mutagénesis inducida por radiación y la carcinogénesis en sistemas de ratón.^{6,12,15,16,17,18}

Otro tipo de radio-protectores, citoquinas e inmunomoduladores, sólo son efectivos si una fracción significativa de la población de células diana sobrevive a la exposición a la radiación, por lo que deben utilizarse con dosis bajas de radiación y/o en combinación con eliminadores de radicales y antioxidantes.¹⁵

Por otra parte, se encuentran los antioxidantes naturales, como la vitamina E, la melatonina, los flavonoides y otros, que tienen un menor grado de protección en comparación con los agentes tiorina. En un estudio, se sugirió que los antioxidantes tienen efecto citoprotector al reducir el estrés oxidativo celular después de la lesión por radiación en el tejido.^{6,15}

Los antioxidantes también pueden tener efectos cuando se administran en periodos relativamente largos después de la exposición a la radiación. Se cree que dichos efectos tardíos se deben a cambios en los patrones de expresión génica y a la eliminación de radicales libres producidos por el estrés oxidativo persistente y la inflamación iniciada por la exposición a la radiación.¹⁸

Un agente prometedor es el α -tocotrienol, un análogo de vitamina E que inhibe potentemente a la HMG-CoA (3-hydroxy-3-metilglutaril-coenzima A) reductase. Dicho agente, ha demostrado no solo aumentar la supervivencia en ratones a través de la mejora de los sistemas hematopoyético y gastrointestinal, sino también disminuir de la gravedad y duración de la neutropenia y trombocitopenia en primates no humanos.^{12,14,18,19}

Los nitróxidos y en particular el tempol, una superóxido dismutasa permeable a las células, que destruye tanto el superóxido como el radical hidroxilo, generado por la radiación ionizante, es un depurador de radicales libres. Se trata de un radioprotector antioxidante en investigación que se dirige a la mitocondria. Tempol ha mostrado efectos radio-protectores en ratones y se ha utilizado en aplicación tópica en estudios de radioterapia de Fase I para prevenir la caída del cabello.¹⁸

También se han investigado una serie de fitoquímicos y preparados herbáceos con propiedades antioxidantes, entre los se encuentran el extracto de ginkgo biloba, flavonoides (genisteína, quercetina y luteolina), procianidinas (a partir de extracto de semilla de uva), resveratrol (de uvas y otras plantas), fenoles de té, curcumina (de rizomas de tumérico), varios hongos y extractos de plantas. Algunos de estos agentes poseen propiedades radio-protectoras y radio-sensibilizantes. Incluso la cafeína se ha demostrado que modifica el daño de radiación y puede actuar tanto como un protector y un sensibilizador.¹⁸

Una clase muy conocida de radio-protectores son los compuestos de sulfhidrilo, entre los que se encuentran la cisteína y la cisteamina. Estos fármacos se basan en un grupo sulfhidrilo al final de la molécula, capaz de capturar radicales libres y de donar átomos de hidrógeno, para facilitar la reparación química directa en sitios donde hay daño del ADN. Desafortunadamente, a las dosis necesarias para la radio-protección causan náuseas y vómitos severos.¹⁸

Otro grupo de compuestos que está siendo estudiado, son análogos de la somatostatina, como el octreótido y el pasereótido, que en modelos animales han demostrado mejorar los efectos de la radiación a nivel intestinal, por mecanismos que dependen de la inhibición de la secreción de enzimas pancreáticas.¹⁴

Muchas citocinas y factores de crecimiento han mostrado tener efectos de mitigación de la radiación, como el factor de estimulación de las colonias de granulocitos, el factor de crecimiento de fibroblastos y queratinocitos, agonistas de los receptores tipo toll 5 y 2/6.^{14,15} Aunque hasta el momento, en Estados Unidos sólo se ha aprobado el uso del factor estimulante de colonias de granulocitos (Filgrastim, Neupogen[®]) y factor estimulante de colonias de granulocitos pegilado (Pegfilgrastim, Neulasta[®]) como contramedida para el sub-síndrome hematopoyético presente en el Síndrome de Radiación Aguda.¹²

Otra molécula que ha sido objeto de estudio como radioprotector es la pentoxifilina, un derivado de xantina que puede ser beneficioso en la prevención de Lesión pulmonar inducida por radiación (RILI) a través de su inhibición de la agregación plaquetaria, aumento del flujo sanguíneo microvascular e inhibición del factor de necrosis tumoral. La administración profiláctica de pentoxifilina en un ensayo aleatorizado en pacientes tratados con radioterapia para cánceres de mama y de pulmón, mostró un efecto protector estadísticamente significativo tanto para toxicidad temprana como tardía. Sin embargo, hasta el momento no obtuvo la aprobación para tal uso.¹⁷

El desarrollo de nuevos radio-protectores busca proporcionar agentes que provean un mayor grado de protección y que sean más selectivos, basado en la premisa de que la citotoxicidad de la radiación ionizante es dependiente del ciclo celular e incluye reguladores del ciclo celular.¹⁵

Síntomas del Síndrome de Irradiación Aguda (SIA)

Los síntomas del síndrome de irradiación aguda pueden incluir náuseas, vómitos, dolor de cabeza y diarrea. Comienzan pocos minutos o días después de la exposición, pueden durar pocos minutos o varios días, además de poder ser intermitentes.²⁰

Estos síntomas incluyen pérdida de apetito, fatiga, náuseas, vómitos, diarrea, convulsiones y coma. Ésta etapa de la enfermedad grave puede durar desde unas horas hasta varios meses.²⁰

Personas que hayan recibido una dosis alta de radiación también pueden sufrir daño en la piel, que puede empezar a manifestarse unas horas después de la exposición o inclusive puede tardar varios días en presentarse. Puede incluir edema, eczema, enrojecimiento de la piel o puede ser más grave e incluir ampollas o úlceras.²⁰

La piel puede recuperarse luego de un tiempo corto, seguido de nuevamente los mismos síntomas antes nombrados, pudiendo tardar entre unas semanas y varios años para sanar por completo, dependiendo de la dosis de radiación al a que se haya expuesto el paciente.²⁰

Las personas que reciben una alta dosis de radiación en la totalidad o en parte del cuerpo pueden presentar caída temporal del cabello, que puede tardar varias semanas en volver a crecer.²⁰

Tratamientos para la exposición a la radiación y la contaminación por radiación

- Tratamiento del síndrome de irradiación aguda

Éste se centra en tratar las infecciones, mantener la hidratación y tratar las lesiones y quemaduras.²⁰

Algunos pacientes podrían beneficiarse de los tratamientos que ayudan a la médula ósea a recuperar su función.²⁰

Mientras más baja sea la dosis de la radiación, más probable será que la persona se recupere del síndrome, aunque el proceso de recuperación puede tomar desde unas semanas a varios años.²⁰

• Tratamiento para la contaminación interna

Durante una emergencia nuclear o por radiación, pueden liberarse materiales radiactivos al aire e introducirse en el cuerpo de las personas por medio de la respiración o a través de las heridas abiertas. También es posible que los materiales radiactivos contaminen las reservas de alimentos de la localidad y se introduzcan en el cuerpo a través de los alimentos o las bebidas. Esto es lo que llamamos comúnmente contaminación interna.²⁰

Cuanto más rápido se elimine la contaminación del cuerpo, menor será la cantidad y la gravedad de sus efectos en la salud. Las contaminaciones internas pequeñas posiblemente no requieran tratamiento.²⁰

Actualmente existen algunos tratamientos disponibles que sirven para limitar o eliminar la contaminación interna, dependiendo del tipo de material radiactivo del que se trate.²⁰

Yoduro de Potasio

Se trata de un agente bloqueante, una sal de yodo estable, aprobado por la FDA para proteger a la tiroides del daño que provoca el yodo radioactivo liberado por la radiación.^{20,21}

Dado que la tiroides no puede distinguir entre el yodo estable y el radiactivo, absorberá ambos. El yoduro de potasio bloquea la entrada de yodo radiactivo en la tiroides. La tiroides absorberá el yodo estable presente en el fármaco, de manera que ya no se absorberá el yodo radiactivo.

Sin embargo, el yoduro de potasio no provee protección total contra el yodo radiactivo.²⁰

La protección se incrementará en función de tres factores:

-Tiempo después de la contaminación: Cuanto más pronto se tome el yoduro de potasio, más tiempo tendrá la tiroides para absorber de yodo estable.²⁰

-Absorción: La cantidad de yodo estable que llega a la tiroides depende de la rapidez con que se absorba el yoduro de potasio en la sangre.²⁰

-Dosis de yodo radiactivo: Al minimizar la cantidad total de yodo radiactivo a la cual se expone una persona, se reducirá la cantidad de yodo radiactivo dañino que la tiroides puede absorber.²⁰

Azul de Prusia

El Azul de Prusia es hexacianoferrato férrico insoluble (Radiogardase®).²¹

Este medicamento puede ayudar a eliminar el Cesio y el Talio radiactivo de la parte interna del cuerpo de una persona.²⁰

El azul de Prusia atrapa el Cesio y el Talio radiactivo en los intestinos, impidiendo que se vuelvan a absorber en el cuerpo, eliminándolos por las heces²⁰

Por lo mencionado anteriormente, el Azul de Prusia ayuda a limitar el tiempo de exposición del cuerpo a la radiación. Reduce la vida media biológica del Cesio y del Talio, de unos 110 días a unos 30 días y de unos 8 días a unos 3 días, respectivamente.²⁰

DTPA (pentaacetato de dietilentriamina)

El pentaacetato de dietilentriamina, también llamado ácido pentético es un fármaco que puede unirse al Plutonio, Americio y Curio radiactivos para reducir el tiempo que se tarda en eliminar estos materiales del cuerpo. Sin embargo, no se logra unir a la totalidad del material radiactivo que puede entrar al cuerpo de una persona tras una emergencia por radiación.²⁰

El DTPA viene en dos formas: calcio (Ca-DTPA) y zinc (Zn-DTPA). Ambas actúan al unirse estrechamente al Plutonio, Americio y Curio radiactivos, favoreciendo su eliminación por la orina.²⁰

El DTPA funciona mejor cuando se administra poco después de que el material radiactivo haya entrado al cuerpo. Cuanto más rápido se elimine el material radiactivo del cuerpo, menos cantidad de efectos habrá en la salud y estos serán menos graves.²⁰

Cuando se administra dentro del primer día después de que ocurra la contaminación interna, el Ca-DTPA es más eficaz que el Zn-DTPA. Después de las primeras 24 horas, el Ca-DTPA y el Zn-DTPA son igual de eficaces.²⁰

Después de las 24 horas, el DTPA se une menos eficazmente a los materiales radiactivos. Sin embargo, el DTPA todavía puede ayudar a eliminar del cuerpo estos materiales varios días o hasta semanas después de que una persona ha sido contaminada internamente.²⁰

Neupogen®

El Neupogen® (Filgrastim) es un fármaco de origen biotecnológico que se ha utilizado exitosamente en los pacientes de cáncer para estimular la producción de los glóbulos blancos, lo que reduce la susceptibilidad a infecciones.²⁰

Una persona que ha recibido una dosis elevada de radiación puede sufrir una destrucción de la médula ósea, lo que conlleva a infecciones y hemorragias incontrolables.²⁰

Neupogen® puede acelerar la producción de glóbulos blancos y acortar el tiempo de susceptibilidad a infección del paciente.²⁰

Conclusiones

La radiación ionizante genera tanto daños directos como indirectos en las moléculas biológicas, ya sea como resultado de la ionización directa de macromoléculas celulares incluyendo ADN, ARN, lípidos y proteínas, o de los daños que se producen como consecuencia de la generación de especies reactivas de oxígeno.

A pesar de que en la actualidad se cuenta con una serie de agentes para tratar la exposición a la radiación, no cabe duda que aún queda mucho camino por recorrer. Deberá continuar la búsqueda de agentes protectores ideales, probablemente centrandose su desarrollo en un estudio más exhaustivo de los mecanismos moleculares involucrados en las lesiones por radiación.

Referencias

- Morgan W, Sowa M. Non-targeted effects induced by ionizing radiation: Mechanisms and potential impact on radiation induced health effects. *Cancer Letters*. 2015; 356(1):17-21.
- Oro N. Los beneficios y los peligros de la radiación [Internet]. Paho.org. 2017 [cited November 2016]. Available from: http://www.paho.org/bol/index.php?option=com_content&view=article&id=130:los-beneficios-peligros-radiacion-&catid=667:notas-de-prensa&Itemid=488.
- Enfermedad por radiación: MedlinePlus enciclopedia médica [Internet]. Medlineplus.gov. 2017 [cited November 2016]. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000026.htm>
- Panganiban R, Snow A, Day R. Mechanisms of Radiation Toxicity in Transformed and Non-Transformed Cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(8):15931-15958.
- Ryan J. Ionizing Radiation: The Good, the Bad, and the Ugly. *Journal of Investigative Dermatology*. 2012;132(3):985-993.
- Shadad A. Gastrointestinal radiation injury: Prevention and treatment. *World Journal of Gastroenterology*. 2013;19(2):199.
- Khan H, Alhomida A. A review of the logistic role of l-carnitine in the management of radiation toxicity and radiotherapy side effects. *Journal of Applied Toxicology*. 2011;31(8):707-713.
- Kanter M, Topcu-Tarladacalisir Y, Parlar S. Antiapoptotic effect of l-carnitine on testicular irradiation in rats. *Journal of Molecular Histology*. 2010;41(2-3):121-128.
- Radiaciones ionizantes: efectos en la salud y medidas de protección [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2017 [cited November 2016]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs371/es/>
- Brown K, Rzucidlo E. Acute and chronic radiation injury. *Journal of Vascular Surgery*. 2011;53(1):15S-21S.
- Golden E, Pellicciotta I, Demaria S, Barcellos-Hoff M, Formenti S. The convergence of radiation and immunogenic cell death signaling pathways. *Frontiers in Oncology*. 2012;2.
- Singh V, Newman V, Romaine P, Wise S, Seed T. Radiation countermeasure agents: an update (2011 – 2014). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2014;24(11):1229-1255.
- Weiss J, Landauer M. History and development of radiation-protective agents. *International Journal of Radiation Biology*. 2009; 85(7):539-573.
- Berbée M, Hauer-Jensen M. Novel drugs to ameliorate gastrointestinal normal tissue radiation toxicity in clinical practice. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*. 2012; 6(1):54-59.
- M. Yazlovitskaya E. Radioprotectors and Mitigators: Current Status. *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*. 2013; 05(01).
- Ethyol [Internet]. 2017 [cited November 2016]. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/020221s024lbl.pdf
- Graves P, Siddiqui F, Anscher M, Movsas B. Radiation Pulmonary Toxicity: From Mechanisms to Management. *Seminars in Radiation Oncology*. 2010;20(3):201-207.
- Mettler F, Brenner D, Coleman C, Kaminski J, Kennedy A, Wagner L. Can Radiation Risks to Patients Be Reduced Without Reducing Radiation Exposure? The Status of Chemical Radioprotectants. *American Journal of Roentgenology*. 2011; 196(3):616-618.
- Singh V, Kulkarni S, Fatanmi O, Wise S, Newman V, Romaine P et al. Radioprotective Efficacy of Gamma-Tocotrienol in Nonhuman Primates. *Radiation Research*. 2016; 185(3):285-298.
- Enfermedades C. Síndrome de irradiación aguda (ARS)|CDC [Internet]. *Emergency.cdc.gov*. 2017 [cited November 2016]. Available from: <https://emergency.cdc.gov/es/radiation/ars.asp>
- Singh V, Romaine P, Seed T. Medical Countermeasures for Radiation Exposure and Related Injuries. *Health Physics*. 2015;108(6):607-630.

Comentemos sobre ...

Las consideraciones de las poblaciones especiales en la investigación con seres humanos

Autor: Daniel Bustos-Montero, MD MScI

Afiliación: I. Gerente Médico Franquicia Cardio-metabólica Pfizer América Central y Caribe.

Correspondencia: Edificio Meridiano, Piso 7, Escazú, San José, Costa Rica

Email: daniel.bustos@pfizer.com

Conflicto de interés: Ninguno

Esta última obligación moral es la base del concepto de poblaciones vulnerables que se utiliza en el campo de la investigación biomédica. Algunas de estos grupos son: mujeres, niños, adultos mayores, embarazo y pacientes con enfermedades concurrentes.

Por lo anterior, es importante diferenciar el concepto de poblaciones especiales de las poblaciones vulnerables, pues aunque frecuentemente se usan como sinónimos, técnicamente, no son lo mismo.

La investigación con seres humanos es uno de esos temas que genera un debate ético genuino, dado que se encuentran en juego dos derechos humanos fundamentales: a) derecho a la vida y; b) derecho a la salud. Es así que, el respeto a los principios éticos internacionalmente reconocidos de autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia, es la guía para garantizar la seguridad y bienestar de las personas que deciden participar en un estudio de investigación.

Específicamente sobre el principio de autonomía, es necesario entender que para su correcta aplicación, se debe cumplir con los requerimientos morales de respetar la autodeterminación del individuo y la protección de aquellas personas que puedan tener comprometida dicha cualidad.¹

Según el Consejo Internacional de Armonización de Requerimientos Técnicos de Productos Farmacéuticos, conocido como ICH, por sus siglas en inglés, se considera **población vulnerable** a aquellos “individuos cuyo deseo de participar en un estudio clínico puede ser mal influenciado por la expectativa, justificada o no, de los beneficios asociados con su participación, o de una venganza por parte de los miembros superiores de una jerarquía en caso de rehusarse a participar”.³

El concepto de **poblaciones especiales** se refiere al término que se usa para hacer conciencia sobre la vulnerabilidad que algunas poblaciones puedan tener en el marco de un estudio en el que participen, ya que cada una de estas poblaciones tiene consideraciones específicas que puedan impactar en la farmacocinética de la droga, creando un ambiente con un alto riesgo para una terapia subóptima o, controversialmente, toxicidad por sobredosis. Estas características deben ser tomadas en cuenta no solo cuando se está elaborando el protocolo de investigación sino también en el desarrollo de las regulaciones y normativas que contribuyan a la protección de estos grupos poblacionales.²

Es por lo anterior que estas poblaciones consideradas especiales quedan excluidas de las fases iniciales de los estudios clínicos que se realizan.⁴ Por ejemplo, los típicos criterios de inclusión/exclusión en los estudios fase I-II limitan la participación a adultos caucásicos entre los 18-65 años, con un índice de masa corporal menor de 25mg/m², mientras que se excluyen personas con condiciones tales como embarazo, disfunción hepática, entre otras que se pueden encontrar en la población general. Conforme los estudios progresan a la fase III del proceso de investigación, en los que ya se cuenta con más información de seguridad sobre la molécula en estudio, los criterios de inclusión/exclusión se hacen más amplios. Por ejemplo, los grandes estudios en sus fases finales tienden a incluir a personas mayores de 65 años, más diversidad en el origen étnico de los participantes, personas con disfunción hepática menor y aquellos pacientes con sobrepeso.

Otras poblaciones como embarazadas, niños o pacientes con enfermedades concurrentes raramente son incorporados en estos estudios, precisamente por la vulnerabilidad citada en párrafos anteriores y, por consiguiente, la información disponible sobre estas poblaciones y otras que resulten más complicadas para el diseño de estudio sigue siendo limitada.⁵ Esta consideración significa que una gran cantidad de las guías de dosificación existentes para estas poblaciones no se basan en estudios rigurosos y, en consecuencia, el clínico debe extrapolar la prescripción basándose en una guía de dosificación elaborada para una población que puede no compartir muchas de sus características, concepto conocido como orfandad de medicamentos.

Por esta razón, algunas de las agencias regulatorias como la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América o la Agencia Europea de Medicamentos han emitido diversos documentos y guías en los que proveen recomendaciones sobre cómo establecer la dosificación en estas poblaciones consideradas especiales. Además, han generado incentivos, como la extensión en el tiempo de duración de la patente de exclusividad por citar una, para las compañías que inviertan en investigaciones tendientes a estudiar a estas poblaciones.⁶

Otro de los requisitos establecidos por estas agencias ha sido la obligación de que los estudios aumenten la participación de los individuos de las poblaciones especiales en las investigaciones clínicas, claro está cuando el diseño metodológico y la patología estudiada así lo permitan. Por ejemplo, que se incluyan subgrupos de personas mayores de 65 años y mujeres en los estudios, aspirando a que dicha participación represente al menos un 20% del total de participantes.⁶

En resumen, conocer el concepto de poblaciones especiales resulta ser un paso crítico para estudiar adecuadamente a estos grupos y poder así interpretar los datos obtenidos, de modo tal que la información generada pueda contribuir a la mejora de las terapias farmacológicas existentes.

Referencias

1. Beauchamp T, Childress J. Principles of biomedical ethics. Editorial Oxford United Press, 7ma Edición. ISBN-13: 978-0199924585. Estados Unidos de América
2. Grimsrud KN, Sherwin CMT, Mohalopoulos NL et al. Special population considerations and regulatory affairs for clinical research. *Clin Res Regul Aff* 2015; 32(2):47-56
3. International Council of Harmonization. E6 Guideline Good Clinical Practice. Disponible en www.ich.org
4. Atuah KN, Hughes D, Pirmohamed M. Clinical pharmacology: Special safety considerations in drug development and pharmacovigilance. *Drug Safety Int J Med Toxicol Drug Experience* 2004; 27:535-54
5. Taylor HA. Monitoring adherence to the NIH policy on the inclusion of women and minorities as subject in clinical research. In: Committee, NTL., editor. Comprehensive report. Silver Springs, MD, USA: United States Federal Agency; 2008.2011-2012.
6. Food and Drug Administration. Guidance for industry. United States Federal Agency; available online at www.fda.gov

Eventos Recomendados

Simposio Recursos Naturales y el cáncer
 Instituto Tecnológico de Costa Rica
 5-6 diciembre de 2017
 San José, Costa Rica

New York Cardiovascular Symposium
 Colegio Americano de Cardiología
 8-10 diciembre de 2017
 Manhattan, New York, Estados Unidos de América

Curso Buenas Prácticas Clínicas
 Instituto Pfizer para la Ciencia y la Investigación
 (IPCI)
 26-28 de febrero 2018
 San José, Costa Rica

XXXII Congreso Centroamericano y del Caribe de
 Psiquiatría
 Asociación Costarricense de Psiquiatría
 21-23 marzo 2018
 San José, Costa Rica

AUA 2018
 Asociación Americana de Urología
 18 – 21 de mayo 2018
 San Francisco, California, Estados Unidos de América

Lecturas recomendadas

Asociación Médica Mundial. Declaración de la AMM sobre las consideraciones éticas de las bases de datos de salud y los biobancos. 67ª Asamblea General de la AMM, Taipei, Taiwán, Octubre 2016. Disponible en <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-la-amm-sobre-las-consideraciones-eticas-de-las-bases-de-datos-de-salud-y-los-biobancos/>

Borysowski J, Ehni HJ, Gorski A. Ethics review in compassionate use. *BMC Medicine* 2017;15:136 Disponible en https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5523146/pdf/12916_2017_Article_910.pdf

Bracker-Roche D, Bell E, Macdonald ME, Racine E. The concept of vulnerability in research ethics: an in-depth analysis of policies and guidelines. *Health Res Policy Syst* 2017; 15:8

Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5297186/>

Instrucciones para el autor

Los manuscritos que se sometan a consideración para ser publicados en esta revista, deberán ajustarse a las consideraciones éticas y a los criterios técnicos establecidos en los “Requisitos uniformes para manuscritos sometidos a revistas biomédicas” desarrollados por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas.

A continuación, se presentan los elementos esenciales que deberán contener los artículos:

Página de título:

Título: Debe incluir toda la información necesaria para su recuperación electrónica. No debe contener abreviaturas.

Autores: Nombre y apellidos del autor o autores y su afiliación institucional.

Nombre de departamento (s), institución (es) donde se realizó el trabajo.

Descargo de responsabilidad (si hay alguno).

Correspondencia: Nombre y dirección postal, número de teléfono y de fax del autor a quien se debe dirigir la correspondencia.

Fuentes de apoyo: listado de quienes contribuyeron económicamente, con equipo, medicamentos u otros.

Título corto: máximo 40 caracteres (incluyendo letras y espacios) en el pie de página de esta sección.

Cantidad de páginas, figuras y cuadros (si el artículo las posee).

A. Página de conflicto de interés: consiste en una declaración de todos los potenciales conflictos de interés que puedan tener los autores. Para efectuar dicha declaración, puede usarse el formato ubicado en la siguiente dirección: http://www.icmje.org/coi_disclosure.pdf.

B. Cuerpo del manuscrito

Resumen: Esta sección debe proveer el contexto del estudio, así como su propósito, el procedimiento (s) básico(s), los hallazgos, las conclusiones y fuentes de apoyo. No deben usarse abreviaturas, referencias o notas al pie de página

Introducción: Detalla el propósito del artículo (esto es, la naturaleza del problema y su importancia). Señala el objetivo o la hipótesis a ser comprobada. No debe, de modo alguno, incluir datos o conclusiones.

Métodos: Describe con claridad el diseño del estudio, los métodos de selección de participantes (si los hay), instrumentos, análisis de laboratorio, procedimientos y análisis estadísticos empleados.

Resultados: Presenta los resultados en secuencia lógica en el texto. Puede contener cuadros e ilustraciones. No deberán repetirse en el texto, aquellos datos presentados en cuadros o ilustraciones. Los cuadros y las ilustraciones se numeran consecutivamente con números arábigos, y se presentan en forma individual, con el título centrado y cualquier nota explicativa en la parte inferior. Las figuras e imágenes deberán ser de calidad profesional; cuando se trate de rayos X, patologías o escaneos, deberán acompañarse de sus respectivas unidades o marcas.

Discusión: Debe enfatizar los aspectos nuevos e importantes aportados por el estudio y las conclusiones que se pueden obtener con la evidencia disponible. No deberá repetirse la información brindada en otras secciones.

Referencias: se sigue el sistema recomendado para revistas biomédicas (www.ICMJE.org). Deberán ser numeradas en forma consecutiva, según el orden en el que se mencionan por primera vez en el texto. Debe evitarse utilizar citas de comunicaciones personales o material no publicado (incluyendo tesis y material de conferencias); estas se pueden anotar entre paréntesis

El tamaño de los artículos debe ser de un máximo de 5 páginas (10 páginas en Word, letra arial 11, con interlineado de 1.5)

Los manuscritos (un original firmado y una copia en CD compatible con ambiente Windows) deberán ser enviados a la siguiente dirección:

Revista Perspectivas en Investigación

Instituto Pfizer para la Ciencia y la Investigación (IPCI)

Departamento Médico

Pfizer Zona Franca S.A.

Edificio Meridiano, Piso 7

Escazú, San José

P.O Box 10202-1000 San José

Costa Rica

Junto al manuscrito original, el autor deberá adjuntar la declaración de transferencia de derechos a la revista, cuyo formato está disponible en www.pfizercac.com, sección Revista Perspectivas en Investigación.



Impreso en Diciembre 2017 • Printing Technique S.A. Costa Rica
500 ejemplares
Edición: BRL Research Ltda.



INSTITUTO PFIZER PARA LA CIENCIA

IPCI

& LA INVESTIGACIÓN