



Modelización farmacocinética / farmacodinámica de proteínas terapéuticas

Zinnia Parra Guillén



Universidad
de Navarra

Introducción



Universidad
de Navarra

Productos biotecnológicos:

- ❖ Biofarmacéuticos/ biológicos
- ❖ 1/3 de los nuevos lanzamientos anuales
- ❖ Diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades graves y/o crónicas
- ❖ Clasificación:
 - Terapia génica y ácido nucleicos
 - Terapia celular
 - Proteínas terapéuticas

Antibióticos
Anticuerpos
Enzimas
Hormonas
Vacunas

Introducción

Proteínas terapéuticas

- ❖ Proteínas biológicas derivadas de procesos biotecnológicos que se utilizan como agentes terapéuticos.
- ❖ Obtención
 - Fluidos biológicos: factores de coagulación
 - Modificadas o híbridas: Rituximab
 - Recombinantes: Interferones (Pegintron®)
 - Expresión de genes codificantes para la proteína
 - Organismos vivos: *E. coli*, *S cerevisiae*, CHO y BHK
 - Estadios iniciales: terapia génica

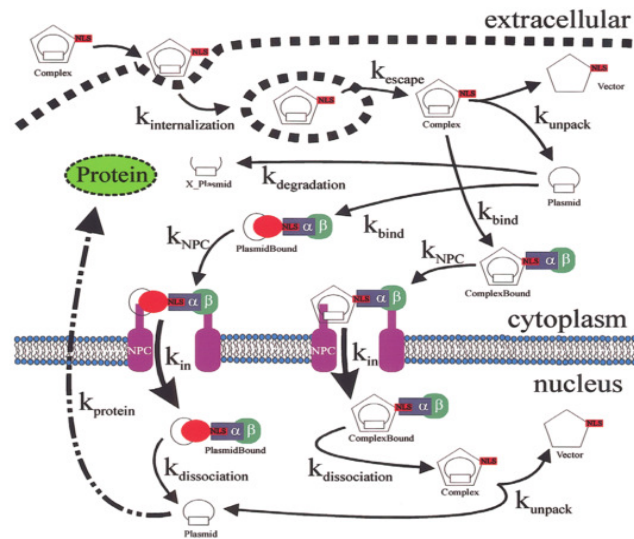


Introducción: experiencia en modelización

Experiencia previa en modelización

- ❖ Proteínas terapéuticas
- ❖ Terapia génica
 - Moderada
 - Expresión génica
 - Disposición (PK) del material genético dentro de la célula
 - Modelo Varga

Introducción: experiencia en modelización



Varga et al, 2001

Introducción: experiencia en modelización

Experiencia previa en modelización

- ❖ Proteínas terapéuticas
- ❖ Terapia génica
 - Moderada
 - Expresión génica
 - Disposición (PK) del material genético dentro de la célula
 - Modelo Varga
 - Escasa
 - Descripción del curso temporal del producto resultante de la expresión del material genético administrado
 - Berraondo *et al*, 2009

Introducción: experiencia en modelización

Diseño experimental

- ❖ Administración iv (hidrodinámica)

Grupo I:

20µ pEF-Luc + 20µ plásmido vacío

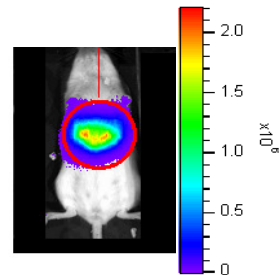
Grupo II:

20µ pEF-Luc + 20µ pEF-mIFNα

Grupo III:

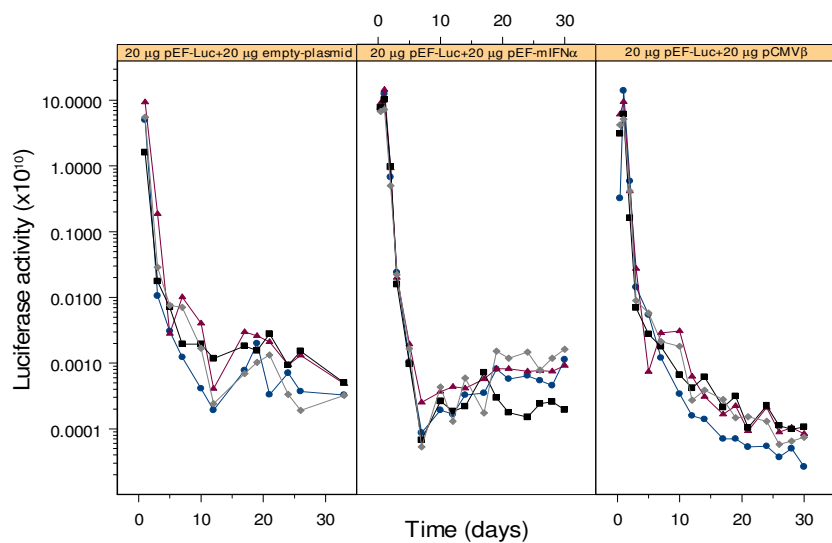
20µ pEF-Luc + 20µ pCMVβ

- ❖ Actividad de luciferasa (6h tras la adm y cada 2/3 días)



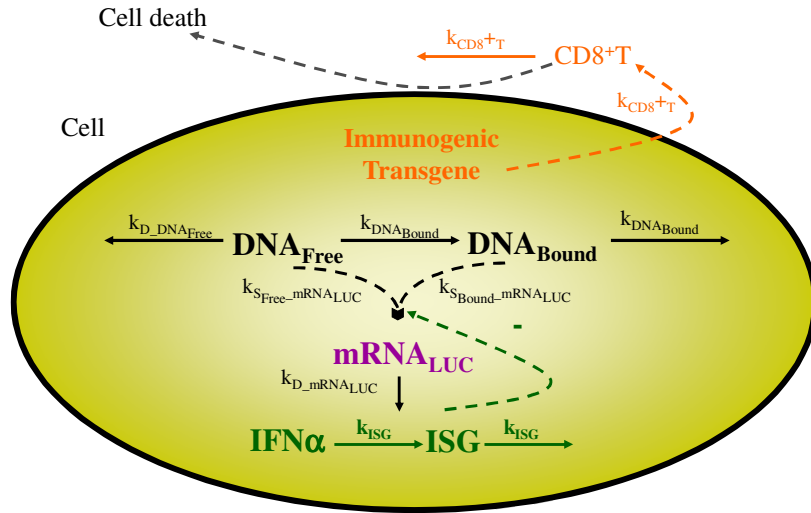
Berraondo et al, 2009

Introducción: experiencia en modelización



Berraondo et al, 2009

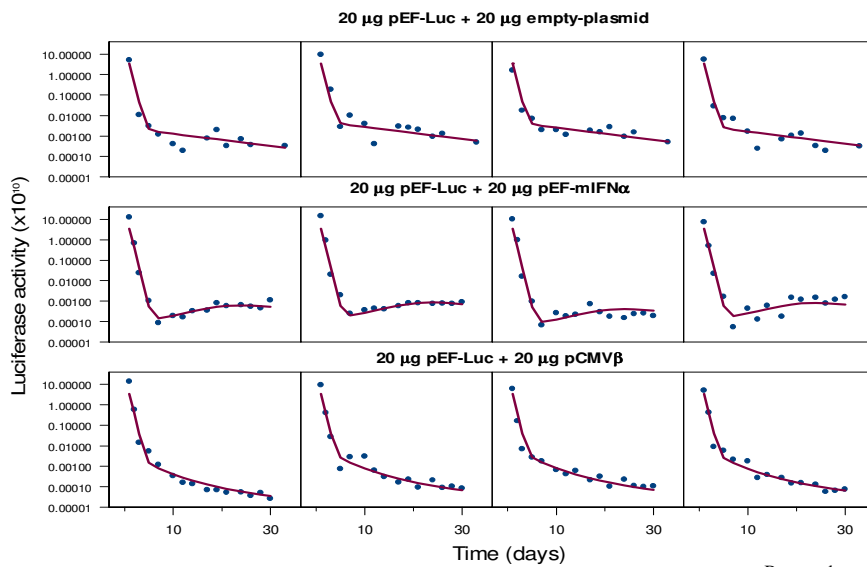
Introducción: experiencia en modelización



Luciferase Activity = mRNA_{LUC}

Berraondo et al, 2009

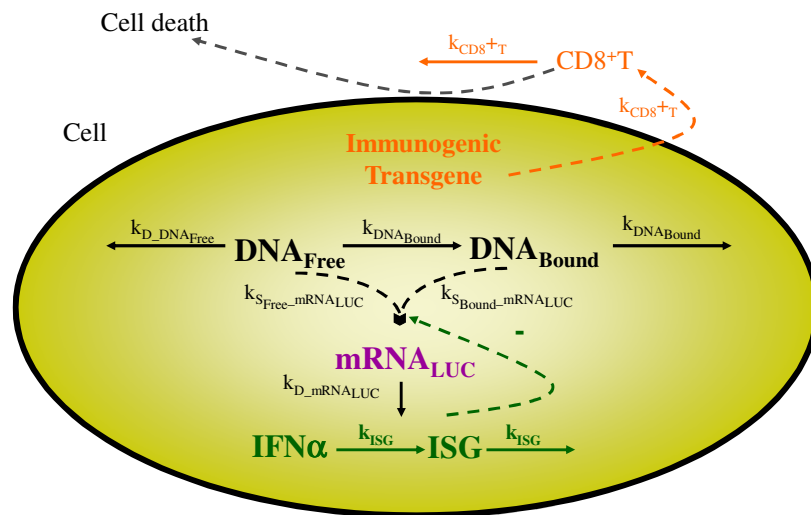
Introducción: experiencia en modelización



Berraondo et al, 2009

PKPD en terapia génica

- Construir modelo cada vez más mecanísticos para describir el efecto asociado a la administración de genes terapéuticos.
- Las propiedades mecanísticas del modelo están relacionadas con el tipo y cantidad de información disponible



Luciferase Activity = $mRNA_{LUC}$

Berraondo et al, 2009

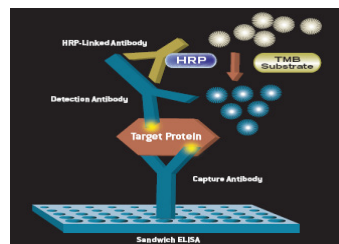
Introducción: dificultades experimentales

Dificultades experimentales

- ❖ Construcción de vectores
 - Selección del vector y sistema de expresión
 - Caracterización de los vectores
- ❖ Administración
 - Velocidad de inyección
 - Volumen administrado (DNA)
- ❖ Respuestas farmacodinámicas
 - Selección del modelo animal
 - Especificidad
 - Expresión génica

Introducción: dificultades experimentales

- ❖ Complejidad en la modelización:
 - Medida analítica: inmunoensayos/bioensayos → variabilidad



- Valores muy pequeños (<LQ)
- No hay validación
- Inmunogenicidad en dosis repetidas

Caso práctico

Objetivo

- ❖ Desarrollar un modelo fisiológico que permita caracterizar cuantitativamente las propiedades farmacocinéticas de una nueva molécula, IFN modificado, en tres compartimentos principalmente:
 - Hígado
 - Plasma
 - Cerebro
- ❖ Desarrollar una metodología experimental suficientemente sensible que permita establecer un modelo fisiológico

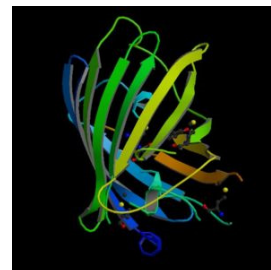
Caso práctico

Proteína verde fluorescente (GFP)

- ❖ Proteína fluorescente aislada en 1960 de la medusa *Aequorea victoria*
- ❖ Muy utilizada en biología molecular
- ❖ Molécula exógena
 - ↑ especificidad y sensibilidad
 - ↓ límite de detección
- ❖ Fusión posible en ambos extremos

Conjugados:

- a) mGFP
- b) IFNGFP
- c) mIFNGFP



Caso práctico

Esquema del estudio

❖ Estudios *in vitro*

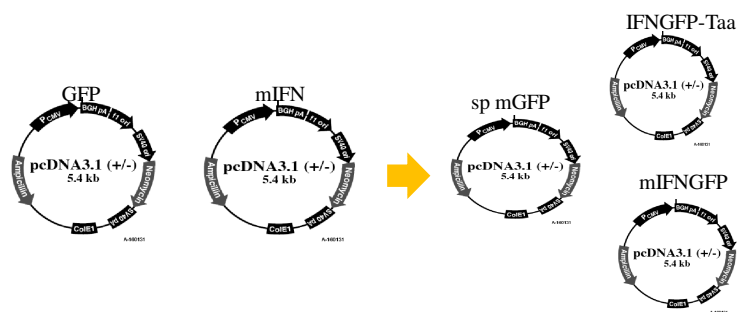
1. Construcción de los vectores
2. Transfección celular
3. Ensayo de inhibición del efecto citopático

❖ Estudios *in vivo*

1. Estudio Farmacocinético: concentración GFP
2. Estudio Farmacodinámico:
 - Expresión del plásmido

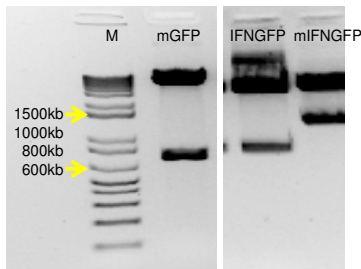
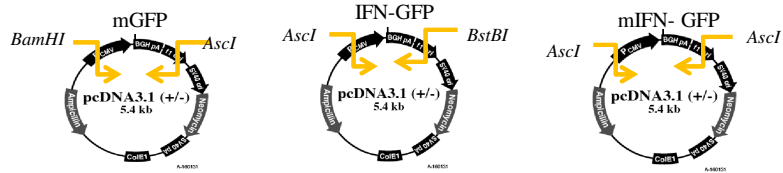
Caso práctico: Estudios *In vitro*

1. Construcción de los vectores



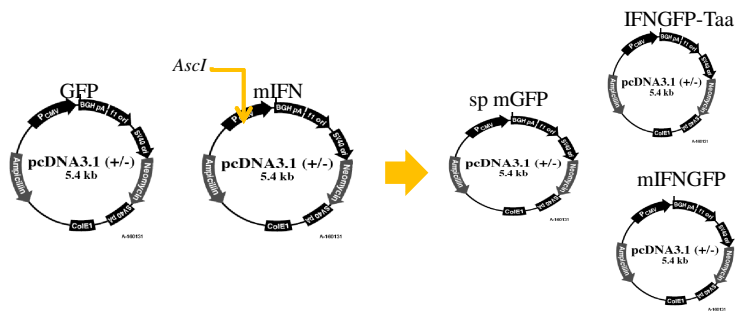
Caso práctico: Estudios *In vitro*

1. Construcción de los vectores



Caso práctico: Estudios *In vitro*

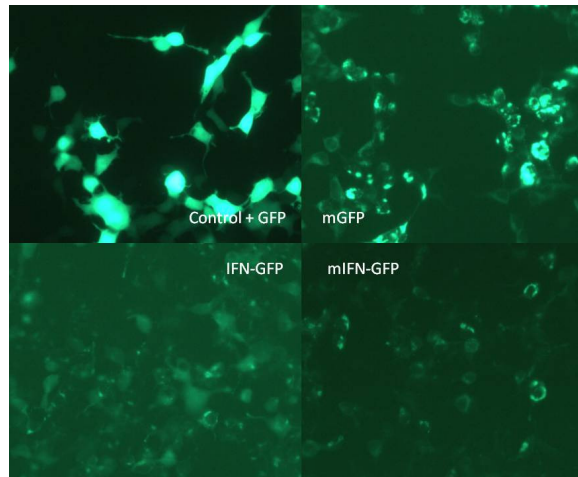
1. Construcción de los vectores



2. Transfección celular

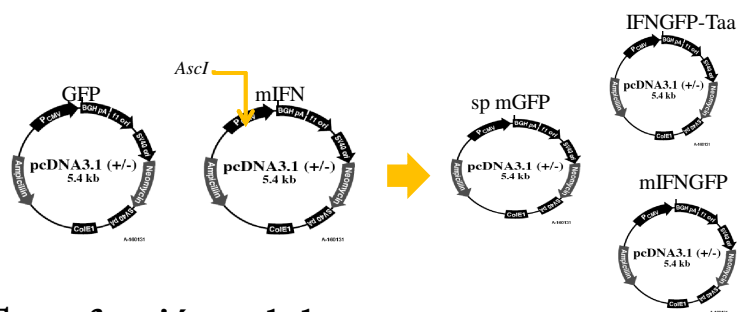
Caso práctico: Estudios *In vitro*

2. Transfección celular



Caso práctico: Estudios *In vitro*

1. Construcción de los vectores

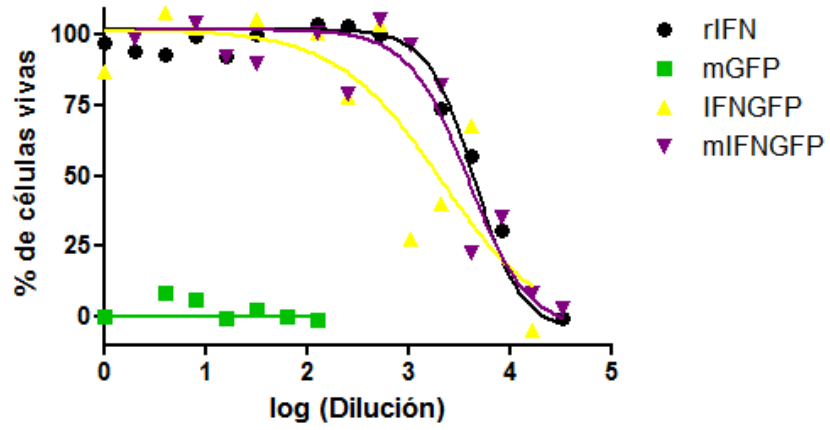


2. Transfección celular

3. Ensayo de inhibición del efecto citopático

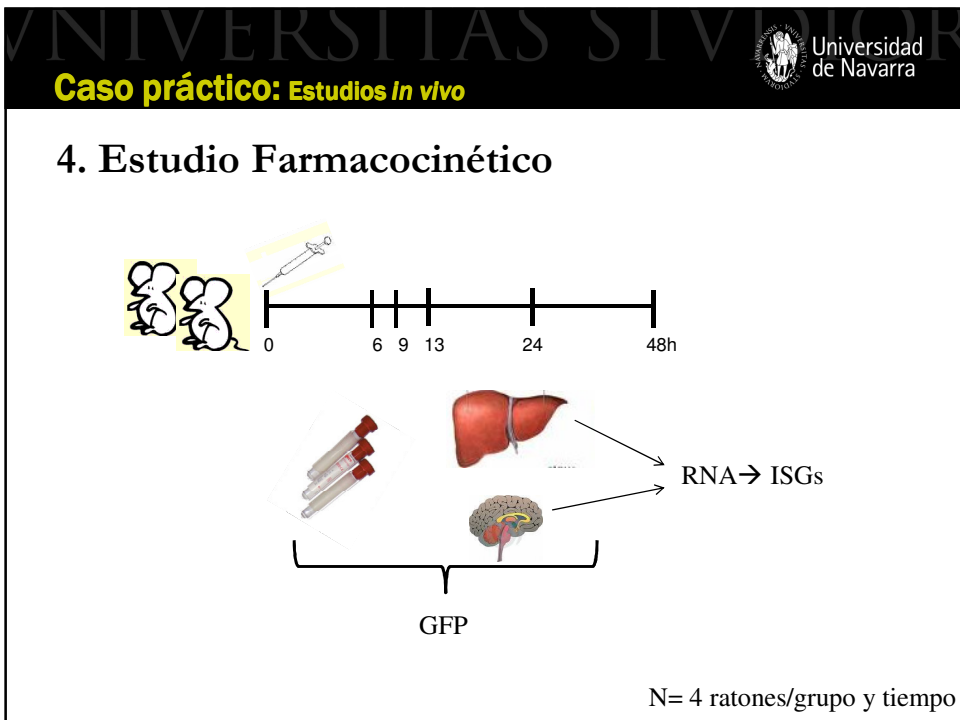
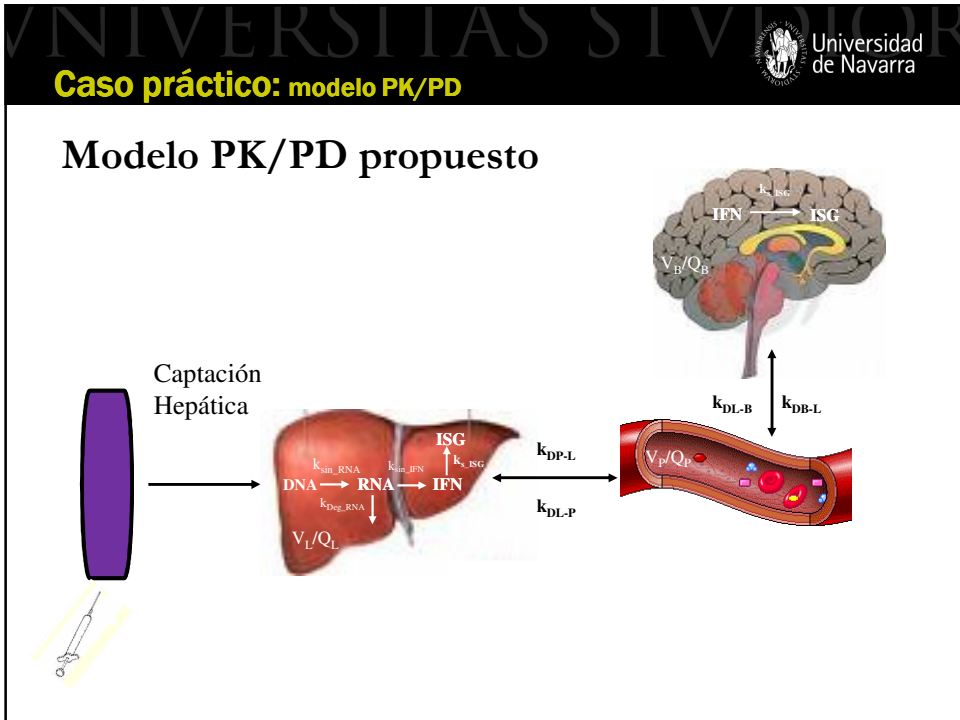
Caso práctico: Estudios *In vitro*

3. Ensayo de inhibición del efecto citopático



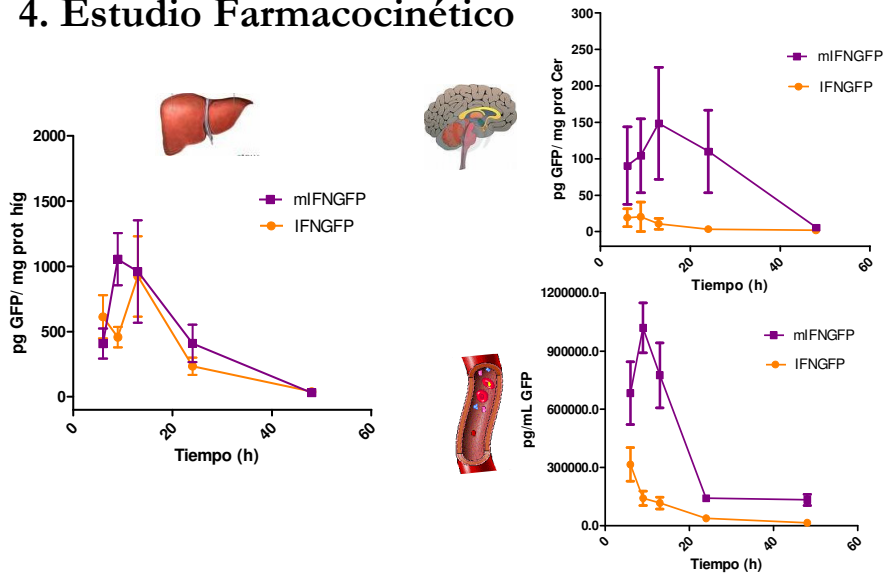
Caso práctico: modelo PK/PD

Modelo PK/PD propuesto



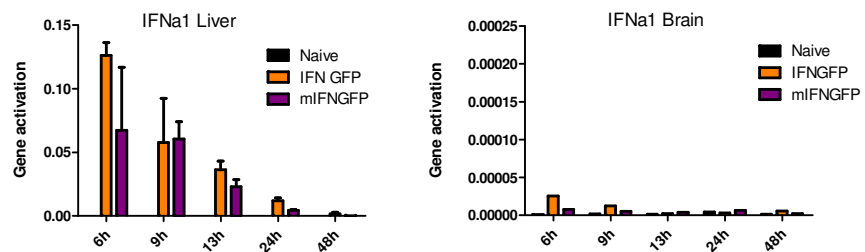
Caso práctico: Estudios *In vivo*

4. Estudio Farmacocinético

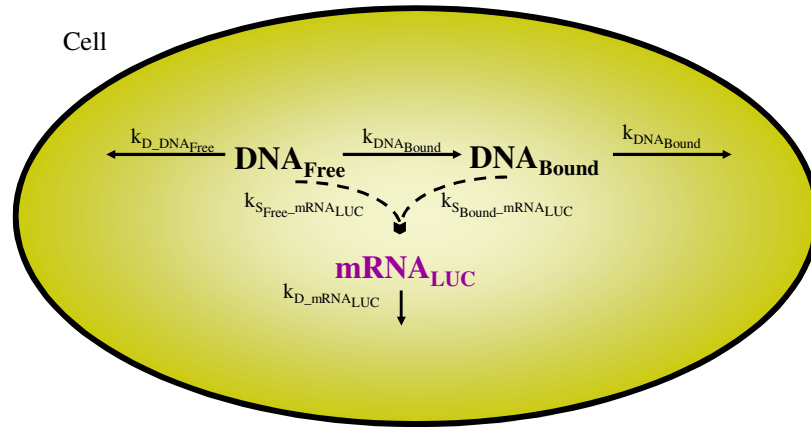


Caso práctico: Estudios *In vivo*

4. Estudio Farmacocinético



Introducción

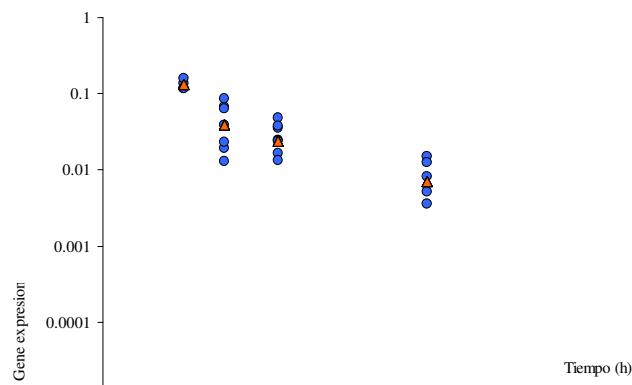
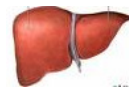


Luciferase Activity= $mRNA_{LUC}$

Berraondo et al, 2009

Caso práctico: preliminares de la modelización

4. Estudio Farmacocinético



Conclusiones

Estos resultados son ejemplo de actividad multidisciplinar de carácter investigados básico donde se integran perfectamente las perspectivas tanto de modelización, como de recogida de información experimental y análisis.

- ❖ Se ha puesto a punto una técnica y que ha posibilitado la cuantificación de niveles de proteína en distintos tejidos
- ❖ Se ha propuesto un modelo y un diseño experimental que permiten obtener información relevante sobre la expresión génica, así como la PK y PD del IFN

Futuros experimentos

- ❖ Repetir el experimento a distintas dosis para explorar mejor los distintos mecanismos implicados en la acción del IFN modificado
- ❖ Trabajar con ratones Knock-out para el receptor del IFN modificado y estudiar los mecanismos de distribución
- ❖ Optimizar un modelo que integre los conceptos de expresión génica con la farmacocinética y la farmacodinamia de la proteína expresada

Agradecimientos



cima

CENTRO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA APLICADA
UNIVERSIDAD DE NAVARRA

TERAPIA GÉNICA Y
HEPATOLOGÍA



Obra Social
Fundación "la Caixa"

ASOCIACIÓN DE AMIGOS
DE LA UNIVERSIDAD DE NAVARRA