

Consideraciones de los estudios toxicológicos preclínicos para vacunas

Reynaldo Oliva-Hernández*

Instituto Finlay de Vacunas. La Habana, Cuba.

email: roh@finlay.edu.cu; reyolivacuba@gmail.com

Carta al editor

Con respecto al artículo publicado en la revista Vaccimonitor, volumen 28 número 1 del año 2019, donde se presentan los resultados del estudio toxicológico realizado a la vacuna antimeningocócica VA-MENGOC-BC® después de 24 y 36 meses de almacenada de 4 a 8°C, quisiera emitir un grupo de consideraciones sobre algunos de los parámetros evaluados en los estudios toxicológicos para vacunas, con el objetivo de optimizar los resultados. En este sentido, podríamos contribuir a un mejor diseño de los estudios toxicológicos preclínicos, para alcanzar un valor predictivo más cercano a lo esperado en los ensayos clínicos. Por otra parte, estas consideraciones pudieran tenerse en cuenta para el análisis de los aspectos éticos, bienestar animal y determinación del punto final humanitario.

Los estudios toxicológicos preclínicos de las vacunas se convirtieron en obligatorios desde la última década del pasado siglo XX, donde se han propuesto y diseñado diferentes estudios para cumplir con estos requisitos. Podemos mencionar, por ejemplo, los estudios de seguridad farmacológica, dosis única, tolerancia local y dosis repetida, entre otros.⁽¹⁾ En cada uno de ellos existen parámetros a evaluar que se repiten, como son la observación clínica de los animales, peso corporal, consumo de agua y alimentos, así como la respuesta local y sistémica. Sin embargo, la información que pudiéramos obtener de estos parámetros, desde las pruebas de concepto hasta los propios estudios toxicológicos, no es explotada al máximo.

Hoy en día, las guías emitidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en mi opinión, son una de las más completas, porque recogen gran parte de las regulaciones y guías emitidas por otras entidades como la FDA (del inglés: Food and Drug Administration), EMA (del inglés: European Medicine Agency), OECD (del inglés: Organisation for Economic Co-operation and Development), ICH (del inglés: International Committee of Harmonization), entre otras. Contemplan un amplio número de parámetros a investigar en los estudios toxicológicos, que abarcan desde ensayos in vitro hasta in vivo.⁽¹⁾ Sobre estos últimos, cada vez más, y para bien, son tenidos en cuenta los aspectos del bienestar animal y el principio de las 3Rs (Reemplazo, Reducción, Refinamiento).^(1,2) En este sentido, consideramos que se pueden introducir elementos que pudieran potenciar las respuestas de algunos de los parámetros investigados. En nuestro caso los realizamos para brindar nuevos elementos a la seguridad de un producto con años de aplicación, tanto en niños como adultos, sin reportar efectos adversos graves y con reconocida seguridad.⁽³⁾

¿Cómo podemos demostrar que una vacuna sigue siendo segura, después de mantenerse conservada durante 36 meses en condiciones controladas y que no evidenció cambios en los estudios analíticos realizados? Además, ¿se justifica un estudio de dosis repetida?

Uno de los parámetros en los estudios toxicológicos que debe considerarse obligatorio y permanente es el peso corporal, el cual ha sido considerado en una amplia gama de estudios, por ser un indicador sensible y general de la toxicidad de las drogas. Los efectos sobre el peso suelen manifestarse desde una disminución de la ganancia en comparación a los controles hasta pérdidas absolutas de peso corporal, en función de la toxicidad del producto probado.

El peso corporal es un elemento muy importante y puede guardar relación con las variables de consumo de agua y alimentos e incluso con parámetros hematológicos, hemoquímicos y hallazgos anatomopatológicos. Esta es una variable donde se debe analizar y definir la implementación del punto final humanitario. A este respecto, los límites

* Médico Veterinario y Zootecnista, Master en Medicina Preventiva Veterinaria, Doctor en Ciencias de la Salud. Jefe del Departamento de Modelos Animales y Toxicología Experimental. Profesor Adjunto de la Universidad Agraria de la Habana.

superiores para la pérdida de peso en un período corto de tiempo ya han sido propuestos por instituciones como FELASA (del inglés: Federation of European Laboratory Animal Science Associations) y otros autores.^(4,5)

En los ensayos clínicos de Fase 0 y I (estudios de seguridad y reactividad), algunos de los parámetros o variables que se evalúan, son: la temperatura corporal y la respuesta local en el sitio de inyección; independientemente de las posibles respuestas sistémicas a determinado producto. La temperatura de los animales en los estudios toxicológicos preclínicos puede contribuir de forma predictiva a estimar la reactividad de un fármaco o vacuna en los ensayos clínicos; por esa razón, debe ser un parámetro a incorporar de forma permanente. Además, la temperatura es un parámetro que puede relacionarse con la vía de administración y con la escala de dolor en los animales.⁽⁶⁾

Es conocido que un grupo de vacunas consideradas seguras y utilizadas hoy en día presentan en ensayos clínicos eventos adversos indeseados: estados febriles, malestar general, dolor de cabeza o molestias en el sitio de administración.^(7,8) Estos eventos son tenidos en cuenta para los análisis de riesgos-beneficios, tanto en fármacos como en vacunas.

No pocas vacunas provocan inflamación local, dolor u otro síntoma, por lo que, la investigación exhaustiva de la respuesta local de determinado producto tiene también gran valor predictivo para los ensayos clínicos. En este sentido, consideramos que, la evaluación del volumen muscular en el sitio de administración de las vacunas que utilizan la vía intramuscular, permite discernir la ocurrencia de procesos inflamatorios locales medibles y de forma consistente al utilizar herramientas de reconocida precisión, como el Calibre o Pie de Rey.

De igual forma, existen otros métodos de evaluación de respuesta local, como el método de Draize modificado.^(1,9) A pesar que es un método de menor precisión, se utilizó durante décadas para los estudios in vivo de irritabilidad dérmica y oftálmica de muchos productos. Aunque hoy en día, estos estudios han sido sustituidos por ensayos in vitro en función del bienestar animal y el principio de las 3Rs,⁽¹⁰⁾ consideramos que el método de Draize, como método evaluador de la respuesta local es útil para las vacunas que utilicen la vía parenteral. Este método podría aportar nuevos elementos a tener en cuenta, además de la inflamación local, la lectura de la piel en todo el sitio de inyección.

Para un producto como la vacuna antimeningocócica VA-MENGOC-BC[®], un estudio de dosis repetida a nuestro criterio no se justifica. Primero, porque no existen antecedentes de este tipo para las vacunas con una estabilidad y vida útil prolongada como ésta. Segundo, no existe ninguna regulación que exija realizar estos estudios, además de los ensayos analíticos de rigor que se llevan a cabo para demostrar la estabilidad del producto. Tercero, los estudios de dosis repetida no son cortos, además de ser costosos, se utilizan más animales de ambos sexos, y el tiempo de análisis de los resultados de todas las variables que se pueden estudiar de forma integrada es mayor. Fue principalmente por estos criterios, que diseñamos el estudio de tolerancia local con dosis única, tomando como filosofías el bienestar animal, el principio de las 3Rs y el análisis “caso a caso”.⁽¹⁾ De ahí que, finalmente consideramos que a los parámetros más frecuentemente utilizados, se pueden incorporar otros como: la temperatura corporal, la musculometría (inflamación local), el método de Draize y la evaluación de dolor (por la escala de dolor), entre otras.

Las consideraciones antes expuestas nos sugieren introducir, en los estudios toxicológicos preclínicos, la mayor cantidad de parámetros posibles con una racionalidad lógica, los que en su conjunto, pudieran tener un valor predictivo potencial de seguridad para las vacunas, antes y durante los ensayos clínicos.

Referencias

1. World Health Organization. Guidelines on the evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccine, Technical Report Series No 987, Annex 2. Geneva: WHO; 2013. Disponible en: http://www.who.int/biologicals/vaccines/nonclinical_evaluation_of_vaccines/en/
2. Morton DB. Humane endpoints in animal experimentation for biomedical research: ethical, legal and practical aspect. *Lab Anim.* 2005;8:5-12.
3. Ochoa RF, Sierra G, Martínez I, Cuevas I. Prevención de la Enfermedad Meningocócica. Ciudad de La Habana: Finlay Ediciones; 2010.
4. Baumans V, Brain PF, Brugère H, Clausing P, Jeneskog T, Perretta G. Pain and distress in laboratory rodents and lagomorphs. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Pain and Distress accepted by the FELASA Board of Management November 1992. *Lab Anim.* 1994;28(2):97-112.
5. Chapman K, Sewell F, Allais L, Delongas JL, Donald E, Festaq M, et al. A global pharmaceutical company initiative: An evidence-based approach to define the upper limit of body weight loss in short term toxicity studies. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013;67(1):27-38.

6. Matsumiya LC, Sorge RE, Sotocinal SG, Tabaka JM, Wieskopf JS, Zaloum A, et al. Using the Mouse Grimace Scale to Reevaluate the Efficacy of Postoperative Analgesics in Laboratory Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2012;51(1):42-9.
7. CDC, Center for Disease Control and Prevention. Flu Vaccine Safety Information. Atlanta: CDC; 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/flu/protect/vaccine/general.htm>.
8. Nichol KL, Margolis KL, Lind A, Murdoch M, McFadden R, Hauge M, et al. Side Effects Associated With Influenza Vaccination in Healthy Working Adults A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Arch Intern Med*. 1996;156(14):1546-50.
9. Draize JH, Woodard G, Calvery HO. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 1944;4(82):377-90.
10. Organization for Economic Cooperation and Development. Test No 439, In Vitro Skin Irritation, Reconstructed Human Epidermis Test Method. Paris: OECD Publishing; 2015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264242845-en>.

Letter to the editor

Preclinical toxicology considerations for vaccines

Regarding the article published in the journal *Vaccin*, volume 28 number 1 of the year 2019, where the results of the toxicological study carried out on the meningococcal vaccine VA-MENGOC-BC® are presented after 24 and 36 months of storage in 4 to 8°C. I would like to issue a list of considerations on some of the parameters generally evaluated in vaccine toxicology studies, in order to optimize the results that can be achieved. In this sense, we could contribute to a better design of preclinical toxicology studies in order to reach a predictive value closer to what is expected in posterior clinical trials. Similarly, these considerations can be taken into account for the analysis of ethical aspects, animal welfare and determination of the humanitarian endpoint.

Preclinical vaccine toxicology studies have become mandatory since the last decade of the 20th century, where different studies have been proposed and designed to meet these requirements. We can mention, for example, pharmacological safety studies, single dose, local tolerance and repeated dose, amongst others.⁽¹⁾ In each of them there are parameters to be evaluated, such as the clinical observation of the animals, body weight, water and food consumption, and the local and systemic response. However, the information that we could obtain from these parameters from the “proof of concept” studies to the toxicological studies themselves, is not exploited to the maximum.

Nowadays, the guides issued by the WHO, in my opinion, are one of the most complete, because they collect a large part of the regulations and guidelines issued by other entities such as the FDA, EMA, OECD, ICH, amongst others. They contemplate a large number of parameters to be investigated in toxicological studies, ranging from in vitro to in vivo tests.⁽¹⁾ On the latter, increasingly, and for good, aspects of animal welfare and the principle of 3Rs are taken into account.^(1,2) In this sense, we consider that elements that could enhance the responses of some of the parameters investigated can be introduced. In our case, we designed them to provide new elements to the safety of a product with years of application, both in children and adults, without reporting serious adverse effects and with recognized safety.⁽³⁾

¿How can we demonstrate that a vaccine remains safe, after being kept for 36 months under controlled conditions and shows no changes in the analytical studies carried out? Also, is a repeated dose study justified?

One of the parameters in toxicological studies that should be considered mandatory and permanent is body weight. This is so because it has been considered in a wide range of toxicological studies for being a sensitive and general indicator of drug toxicity. The effects on weight usually manifest themselves as a decrease in weight gain compared to controls to absolute body weight loss, depending on the toxicity of the product tested. Body weight is a very important element and can be related to the parameters of water and food consumption and even to haematological studies, serum chemistry and anatomo-pathological findings. This is a variable where the implementation of the humanitarian endpoint must be analyzed and defined. In this regard, the upper limits for weight loss in a short period of time have already been proposed by institutions such as FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) and other authors.^(4,5)

In Phase 0 and I clinical trials (safety and reactogenicity studies), some of the parameters and variables evaluated are the body temperature and the local response at the injection site, regardless of the possible systemic responses to a certain product. Animal temperature in preclinical toxicology studies may predictively contribute to the reactogenicity of a drug or vaccine in clinical trials; for that reason, it must be a parameter that needs to be incorporated permanently. Moreover, temperature is a variable that can be related to the route of administration and pain scale.⁽⁶⁾

It is known that a group of vaccines considered to be safe and used today have multiple undesirable adverse events in clinical trials, such as febrile states, malaise, headache or discomfort at the administration site.^(7,8) These events are taken into account for risk-benefit analysis in both drug and vaccine studies.

Not many vaccines cause local inflammation, pain or other symptoms. Therefore, the exhaustive investigation of the local response of a certain product also has great predictive value for clinical trials. In this regard, we consider that the evaluation of muscle volume at the vaccine administration site using the intramuscular route allows to discern measurable local inflammatory processes; and in a consistent way when using tools of recognized precision such as Callipers. Similarly, there are other methods of evaluating local responses, such as the modified Draize method.^(1,9) Despite that it is a method of lower precision, it was used for decades for in vivo dermal and ophthalmic irritability studies. Although nowadays, these studies have been replaced by in vitro tests on the base of animal welfare and the 3Rs principle fulfillment,⁽¹⁰⁾ we consider the Draize method useful for vaccines that use the parenteral route as a local response evaluation method. This method could provide new elements to take into account, in addition to local inflammation, the lecture of the skin throughout the injection site.

For a product such as the meningococcal VA-MENGOC-BC[®] vaccine, a repeat dose study in our opinion is not justified. First, because there is no history of this type for vaccines with stability and long life like this. Secondly, there is no regulation that requires these studies, in addition to the rigorous analytical tests that are carried out to demonstrate the stability of the product. Third, the repeated dose studies are not short, and besides being expensive, more animals are used, and the timing of result analyses of all the variables in an integrated manner is higher. It was mainly, by these criteria, that we designed the study of local tolerance with a single dose, taking as animal welfare philosophies, the principle of 3Rs and the analysis “case by case”.⁽¹⁾ Hence, we finally consider that the most frequently used parameters can include others such as body temperature, musculometry (local inflammation), the Draize method, and pain assessment (by the pain scale), amongst others.

These considerations, mentioned above, suggest us to introduce in the preclinical toxicological studies as many parameters as possible with a logical rationality. Together, they may have a potential predictive value of safety for vaccines before and during clinical trials.

Recibido: 18 de Febrero 2019

Aceptado: 1 de Abril de 2019