

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA**

**Departamento de Nutrición y Bromatología II
(Bromatología)**



**PLANTAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE COMO
VACUNAS COMESTIBLES : ASPECTOS CIENTÍFICOS Y
SOCIOECONÓMICOS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

María Elena Cebadera Miranda

Bajo la dirección de la doctora

Montaña Cámara Hurtado

Madrid, 2012

© María Elena Cebadera Miranda, 2010

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Dpto. de Nutrición y Bromatología II: Bromatología



**PLANTAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE
COMO VACUNAS COMESTIBLES: ASPECTOS
CIENTÍFICOS Y SOCIOECONÓMICOS**

TESIS DOCTORAL

M^a ELENA CEBADERA MIRANDA

Directora Dra. Montaña Cámara Hurtado

Madrid, 2010



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA II
Bromatología

CARMEN DÍEZ MARQUÉS, CATEDRÁTICA DEL ÁREA DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA, Y DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA II: BROMATOLOGÍA, DE LA FACULTAD DE FARMACIA, DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

CERTIFICA QUE:

El presente trabajo de investigación titulado **“Plantas modificadas genéticamente como vacunas comestibles: Aspectos científicos y socioeconómicos”** se ha realizado en este Departamento bajo la dirección de la Dra. Montaña Cámara Hurtado y constituye la Memoria que presenta Dña. M^a Elena Cebadera Miranda para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste, a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Madrid a treinta de abril de dos mil diez.



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA II
Bromatología

MONTAÑA CÁMARA HURTADO PROFESORA TITULAR DEL ÁREA DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA, EN EL DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA II: BROMATOLOGÍA, DE LA FACULTAD DE FARMACIA, DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

CERTIFICA QUE:

Dña. M^a Elena Cebadera Miranda, ha realizado bajo su dirección y en este Departamento el trabajo que lleva por título **“Plantas modificadas genéticamente como vacunas comestibles: Aspectos científicos y socioeconómicos”** y que constituye su Memoria de Tesis Doctoral. Dicho trabajo reúne las condiciones necesarias para su presentación y defensa.

Y para que conste, y surta los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Madrid a treinta de abril de dos mil diez.

A ÓSCAR
Para siempre

Esta tesis doctoral, si bien me ha requerido gran esfuerzo y dedicación, no hubiese sido posible sin la inestimable ayuda de mi Directora de tesis, la Dra. Montaña Cámara Hurtado, quien con su buen hacer y entusiasmo ha impregnado cada página y cada momento difícil y ha sido mi soporte imprescindible en momentos de angustia. Por ello quiero agradecerle el empuje que me ha ofrecido durante estos años, ya que ha sido un verdadero placer trabajar bajo su dirección en esta tesis.

En particular, quiero agradecer y dedicar esta tesis, a mi marido -Óscar Aliste-, porque a pesar de haberle robado muchos ratos de descanso, viajes y alegría, siempre ha estado ahí, velando por mi felicidad y dejándome andar el camino a mi ritmo, pero siempre con su compañía. A él quiero agradecerle expresamente su apoyo, su ánimo, su amor y dedicación a mí, siempre brindados desinteresadamente y que me dan la fortaleza necesaria para seguir adelante.

Agradecer hoy y siempre a mi familia por haberme inculcado el amor por los estudios, en particular a mi padre, que para mí siempre ha sido mi referente académico y el mejor de mis profesores, y a mi madre, que siempre ha sido mi soporte y modelo en fortaleza y afán de superación. No puedo olvidarme de mi hermana Laura, a quien aún sigo viendo como esa niña alegre, cariñosa y alocada; ella me ha enseñado que las cosas importantes no son siempre las más sencillas y que hay que romper esquemas; gracias Laura.

De igual manera mi más sincero agradecimiento a M^a Luz, Ángel y Fran, quienes con su cariño siempre han estado pendientes de mí y preocupándose por mi tesis, dándome apoyo y ánimos en todo momento.

Un agradecimiento especial a la Dra. Olga Sánchez, "*mi querida Olga*", por su colaboración, ánimo, apoyo y cariño brindados desde que la conocí y sobre todo por esa sólida amistad que forjamos en momentos difíciles y que espero que dure para siempre. Olga, gracias por escucharme y dame buenos consejos.

Del mismo modo, quiero agradecer de forma especial el apoyo diario, el consuelo y la amistad que me regala la Dra. María García Amo, sobre todo porque ella, mejor que nadie, sabe lo que es sacar adelante una tesis doctoral trabajando en un puesto de responsabilidad en la Industria Farmacéutica. Gracias María.

También quiero agradecerle expresamente al Dr. José Ignacio Cubero, todo su tiempo, consejos y revisiones; sin sus magníficas aportaciones esta tesis no hubiera sido igual.

Agradezco el apoyo de mis compañeros del Departamento de Nutrición y Bromatología II. Bromatología, en especial a los doctores Virginia, Cortes y Esteban y a Patricia, por todo el ánimo y por sus buenos consejos en cada etapa durante estos años de estudio.

En general, quiero agradecer a todas y cada una de las personas que han vivido conmigo la realización de esta tesis doctoral, con sus altos y bajos, que no necesito nombrar porque tanto ellas como yo sabemos que desde lo más profundo de mi corazón les agradezco el haberme brindado todo el apoyo, colaboración, ánimo y sobre todo su cariño.

*“La dificultad no está en aceptar las nuevas ideas
sino en escapar de las viejas”*

J.M. Keynes (1930)

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AB0	Sistema de grupos sanguíneos
AcMo	Anticuerpo monoclonal
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	ADN circular
ADPIC	Acuerdo sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio
AESAN	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
Ag	Antígeno
Ag-Ac	Unión antígeno-anticuerpo
ARN	Ácido Ribonucleico
ARNi	ARN de interferencia
ASEBIO	Asociación Española de empresas de Biotecnología
BNA	Banco Nacional de Algas
Bt	Bacillus thuringiensis
CCA	Comisión del Codex Alimentarius
CCAA	Comunidades Autónomas
CDB	Convenio para la Diversidad Biológica
CE	Comisión Europea
CECMED	Centro para el control estatal de la calidad de los medicamentos de Cuba
CECT	Colección Española de Cultivos Tipo
CEP	Convención Europea de Patentes
CIAA-PCM	Círculo de Innovación en Agroalimentación - Parque Científico de Madrid
CIBT	Círculo de Innovación en Biotecnología
CIGB	Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Cuba
CNB	Comisión Nacional de Bioseguridad
CPVO	Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones Científicas
CT-B	Subunidad B de la toxina del cólera
CTL	Linfocito T citotóxico
CUPOV	Convenio de la UPOV
DPMA	Oficina alemana de patentes y marcas (<i>German Patent and Trade Mark Office</i>)
EA	Enfermedad de Aujeszky
ECET	Cepa enterotoxigénica de E. coli
EDA	Enfermedad diarreica aguda
EEUU	Estados Unidos de América
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (<i>European Food Safety Authority</i>)
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EPC	Convenio de Patente Europea
EPO	Oficina europea de patentes (<i>European Patent Office</i>)

FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (<i>The Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
FASEB	Federación de sociedades americanas para experimentación biológica (<i>Federation of American Societies for Experimental Biology</i>)
FDA	Autoridad americana para registro de alimentos y fármacos (<i>Food and Drug Authority</i>)
FECYT	Fundación Española para la Ciencia y Tecnología
FGUAM	Fundación General de la Universidad Autónoma de Madrid
FROST	Frost & Sullivan Healthcare Practice UK
FSTA	Food Science and Technology Abstract
GATT	Acuerdo General sobre Aranceles y Comercio (<i>General Agreement on Tariffs and Trade</i>)
GIVS	Visión y Estrategia Mundial de Inmunización
GLP	Buenas prácticas de laboratorio (<i>Good Laboratory Practices</i>)
GRAS	Alimentos Generalmente Reconocidos como Seguros
H1N1	Virus de la gripe A
HA	Hemaglutinina
HBsAg	Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
hGH	Hormona de crecimiento humana
IFN	Interferón
IFT	Institute of Food Technologists
Ig	Inmunoglobulina
IgA	Inmunoglobulina A
IgD	Inmunoglobulina D
IgE	Inmunoglobulina E
IgG	Inmunoglobulina G
IND	Nuevo principio activo en investigación clínica (<i>Investigational New Drug</i>)
ISAAA	The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications
JPTO	Oficina japonesa de patentes (<i>Japanese Patent Office</i>)
JRC	Joint Research Center (de la Comisión Europea)
KBBE	Bioeconomía europea basada en el conocimiento (<i>European Knowledge Based Bio-Economy</i>)
KRIBB	Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology
LB	Linfocito B
LT-B	Subunidad B de la toxina termolábil de <i>Escherichia coli</i>
M	Macrófagos
MAPA	Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (actualmente MARM)
MARM	Ministerio de Medio Ambiente, Rural y Marino
MG	Modificado genéticamente
miARN	Micro ARN
MMG	Microorganismo Modificado Genéticamente
MSPS	Ministerio de Sanidad y Política Social

NA	Neuroaminidasa
NK	Célula asesina natural (<i>natural killer</i>)
OCDE	Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos
ODM	Objetivos fijados de desarrollo del Milenio
OEP	Oficina Europea de Patentes
OEPM	Oficina Española de patentes y Marcas
OEVV	Oficina Española de Variedades Vegetales
OGM	Organismo Genéticamente Modificado
OMC	Organización Internacional del Comercio
OMG	Organismo Modificado Genéticamente
OMPI	Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONG	Organización no gubernamental
OPTI	Observatorio de Prospectiva Tecnológica
OTC	Acuerdo sobre Obstáculos Técnicos al Comercio
OVM	Organismo vivo modificado genéticamente
PAI	Programa Ampliado de Inmunizaciones de la OMS
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PCT	Tratado de Cooperación en materia de patentes (<i>Patent Cooperation Treaty</i>)
PD	Países Desarrollados o Países Industrializados
PG	Prostaglandina
PIB	Producto Interior Bruto
PMN	Células polimorfonucleares
PMPs	Plant-Made Pharmaceuticals
PNAS	Proceedings of the National Academy of Sciences
PNUD	Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
PTGS	Silenciamiento génico postranscripcional
PTS	Proteína Soluble Total
PVD	Países en vías de desarrollo
RE	Retículo endoplasmático
rHLF	Rice Human Lactoferrin
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real
rVN	Virus Norwalk recombinante
SEBIOT	Sociedad Española de Biotecnología
siARN	ARN de interferencia pequeño
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SPS	Acuerdo Sanitario y Fitosanitario
T	Linfocitos T
T1DM	Diabetes Mellitus tipo 1
Tc	Linfocitos T citotóxicos
TC	Toxina colérica

TC-B	Subunidad B de la toxina colérica
TFFDB	Grupo de Acción Intergubernamental Especial del Codex sobre Alimentos obtenidos por Medios Biotecnológicos
Th	Célula T colaboradora (T helper)
Th1	Célula T colaboradora con perfil específico de linfocinas
Th2	Célula T colaboradora con perfil específico de linfocinas
TJCE	Tribunal de Justicia de las Comunidades Europeas
TL	Toxina lábil de E. coli
TL-B	Subunidad B de TL
TNF	Factor de necrosis tumoral
TRIPS	Trade-Related aspects of Intellectual Property Rights
Ts	Linfocitos T supresores/reguladores
UE	Unión Europea
UICN	Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y de los Recursos Naturales (Unión Mundial para la Naturaleza)
UNICEF	Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia
UPOV	Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales
USPTO	Oficina Americana de Patentes y Marcas (<i>United States Patent and Trademark Office</i>)
VAB	Valor Añadido Bruto
VHB	Virus de la hepatitis B
VHS	Virus herpes simplex
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana
VIPM	Sexto Programa Marco de investigación de la Unión Europea
VLPs	Virus como partículas
VN	Virus Norwalk
WB	Western blot
WOK	Web of Knowledge

ÍNDICE

1 PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

2 ASPECTOS TÉCNICOS

2.1. Inmunología y respuesta inmune	5
2.2. La vacunación	8
2.2.1. Vacunas de nueva generación	21
2.3. Importancia de la Agrobiotecnología	25
2.3.1. Situación actual de los cultivos modificados genéticamente	30
2.3.2. Aplicaciones de la Agrobiotecnología	39

3 MARCO JURÍDICO

3.1. Aspectos regulatorios de los OMGs	55
3.1.1. Autorización de OMGs.....	66
3.1.2. Etiquetado de OMGs	70
3.1.3. Autoridades relacionadas con OMGs	76
3.2. Aspectos regulatorios de los nuevos alimentos	77
3.2.1. Autoridades relacionadas con los nuevos alimentos	81
3.3. Aspectos regulatorios sobre la protección jurídica de la propiedad industrial	83
3.3.1. Regulación Internacional	84
3.3.2. Las patentes biotecnológicas	89
3.3.3. Las variedades vegetales	96
3.3.4. Autoridades relacionadas con la protección jurídica la propiedad industrial	107
3.3.5. Diferencias regulatorias entre la UE y los EEUU	109

4 OBJETIVOS, PLAN DE TRABAJO Y METODOLOGÍA

4.1. Objetivos	113
4.2. Plan de trabajo	114
4.3. Metodología del estudio	116

5 PLANTAS COMO BIOFACTORÍAS

5.1. Conceptos <i>Molecular Farming</i> y <i>Molecular Pharming</i>	123
5.2. Técnicas de producción de compuestos biofarmacéuticos en plantas	127
5.2.1. Transformación estable de plantas	127
5.2.2. Transformación transitoria	133
5.3. Compuestos de interés farmacéutico expresados en plantas	135
5.3.1. Proteínas sin carácter inmunológico	135
5.3.2. Proteínas con carácter inmunológico	148
5.3.2.1. Producción de anticuerpos	149
5.3.2.2. Producción de compuestos antigénicos: vacunas	155

6	PLANTAS COMO BIOFACTORÍAS: VACUNAS COMESTIBLES	
6.1.	La aplicación de la biotecnología en el desarrollo de vacunas	157
6.2.	Definición del término “vacunas comestibles”	160
6.3.	Historia y evolución de las vacunas comestibles	162
7	ASPECTOS CIENTÍFICOS DE LAS VACUNAS COMESTIBLES COMO MODELO DE VACUNACIÓN	
7.1.	Sistemas de expresión de vacunas en plantas	172
7.1.1.	Plantas de hoja y forrajeras	173
7.1.2.	Cereales y Leguminosas	176
7.1.3.	Frutas, Tubérculos y Hortalizas	177
7.2.	Problemática de las vacunas comestibles	179
7.3.	Estrategias para aumentar los niveles de expresión	184
7.4.	Vacunas comestibles en fase de investigación	188
7.4.1.	Vacunas comestibles en investigación clínica	193
7.4.1.1.	Vacuna contra el virus de la Hepatitis B	194
7.4.1.2.	Vacuna contra gastroenteritis causadas por el virus Norwalk	198
7.4.1.3.	Vacuna contra la enteritis producida por E. Coli	201
7.4.1.4.	Vacuna contra el cólera producido por Vibrio colerae	203
7.4.2.	Proyecto Pharma-Planta	205
7.5.	Bioseguridad de las vacunas comestibles	210
8	ASPECTOS REGULATORIOS RELATIVOS A VACUNAS COMESTIBLES	
8.1.	Vacunas comestibles como OMGs	216
8.2.	Vacunas comestibles como nuevos alimentos	218
8.3.	La protección jurídica de la propiedad industrial de las vacunas comestibles	221
8.4.	Comercialización de vacunas comestibles	226
9	ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS	
9.1.	Aspectos socio-políticos	230
9.1.1.	Importancia internacional de la vacunación	234
9.2.	Aspectos económicos e industriales	241
9.2.1.	Patentes relativas a vacunas comestibles.....	246
9.3.	Aceptación social de las vacunas comestibles como productos agrobiotecnológicos	262
9.3.1.	Alimento versus medicamento	266
10	CONCLUSIONES Y REFLEXIÓN FINAL	
10.1.	Conclusiones	277
10.2.	Reflexión final	282
11	BIBLIOGRAFÍA	
11.1.	Documentos Científicos	283
11.2.	Normativa	299

1. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

La vacunación es una de las vías más utilizadas para el control de enfermedades infectocontagiosas en medicina, tanto por su seguridad como por las ventajas que aportan confiriendo al organismo de mecanismos de respuesta propios frente a ciertas enfermedades. Tradicionalmente, las estrategias de vacunación han ayudado a erradicar y controlar epidemias tanto en medicina veterinaria como humana, sin embargo las vacunas utilizadas (vacunas inactivadas y atenuadas) presentan algunas desventajas como son: los peligros de la inactivación incompleta y reversión de la patogenicidad, que pueden producir complicaciones después de la vacunación.

A pesar del uso y desarrollo de las vacunas tradicionales es necesario seguir investigando en la obtención de nuevas vacunas, lo que está motivado por diferentes causas como: que todos los microorganismos desarrollan mecanismos de evasión que interfieren con la respuesta inmune y no en todos está claro cuáles son los mecanismos inmunes eficientes, la evolución rápida de los microorganismos, el surgimiento de nuevas variantes patógenas más virulentas y resistentes a fármacos, la reemergencia de enfermedades infecciosas a nivel mundial, etc.

Los avances tecnológicos de las últimas décadas que incluyen la manipulación genética, las técnicas de ADN recombinante, los nuevos métodos de atenuación de patógenos, los avances en inmunología particularmente en lo referido a la presentación antigénica y procesamiento de antígenos, han permitido el desarrollo de vacunas dirigidas hacia la búsqueda de una respuesta inmune más específica, sirviendo como base fundamental para el desarrollo de las denominadas vacunas de nueva generación.

Una alternativa muy utilizada en los últimos 20 años, para producir compuestos de interés terapéutico idénticos a los naturales, es el uso de células animales modificadas con técnicas

de ADN recombinante; sin embargo, el cultivo de estas células a escala industrial es muy costoso. Por esta razón, los últimos desarrollos van encaminados a la producción de compuestos terapéuticamente activos en sistemas de expresión distintos a los animales.

El sistema de expresión ideal que se busca es aquel capaz de producir compuestos de interés biológicamente más activos, en mayor cantidad, de forma más segura y con el coste más bajo posible.

Un sistema de expresión que se acerca a la definición anteriormente mencionada, son las plantas. Por ello, aparte de la mejora de las características agronómicas y del aporte nutritivo, las plantas modificadas genéticamente son biofactorías que permiten la obtención de sustancias de interés terapéutico. Por ello, numerosos compuestos biofarmacéuticos se han estado produciendo desde hace muchos años en diversos sistemas vegetales. Esto es posible debido a que la mayoría de los genes de cualquier origen se pueden expresar en sistemas heterólogos, como son las plantas.

En consecuencia, existen actualmente tres áreas en las que la Agrobiotecnología en relación con salud humana está teniendo un impacto importante:

- Obtención de otros compuestos biofarmacéuticos: “Biofármacos”.
- En la producción de anticuerpos y sus receptores a partir de plantas modificadas genéticamente.
- En la producción de antígenos que permiten el desarrollo de vacunas comestibles a partir de plantas modificadas genéticamente.

En este sentido, el objeto de la presente tesis consiste en profundizar en los aspectos más relevantes relacionados con la expresión de compuestos antigénicos en sistemas vegetales con el propósito de obtener vacunas comestibles (capítulos quinto al noveno). Para ello, es necesario hacer un repaso previo de los diferentes aspectos técnicos relacionados con la tecnología que permite su obtención (capítulo segundo) así como una revisión cronológica del marco jurídico relacionado con este tipo de productos (capítulo tercero), que han condicionado el desarrollo, aceptación y progresión socioeconómica de las vacunas comestibles como herramienta de vacunación.

Así, en el capítulo segundo se abordan diferentes aspectos generales sobre la inmunología y la respuesta inmune, haciendo especial hincapié en aquellas necesidades no satisfechas con los sistemas tradicionales de vacunación, que hacen necesarias nuevas estrategias entre las que destacan las vacunas de nueva generación así como las nuevas fuentes de obtención de las mismas como los sistemas vegetales como biofactorías de compuestos de interés farmacéutico, en particular las vacunas comestibles. También se introducen los fundamentos de la vacunación como herramienta para combatir a los diversos patógenos que comprometen el sistema inmune haciendo una referencia expresa a las vacunas obtenidas por técnicas biotecnológicas en concreto aquellas que utilizan los sistemas vegetales como fuente para la obtención de compuestos antigénicos de interés aptos para utilizarse como vacuna, haciendo una revisión de los avances técnicos y el desarrollo de los mismos desde un punto de vista cronológico.

En este mismo capítulo, se hace referencia a las oportunidades y desafíos de la Agrobiotecnología, dado que es necesario describir las características intrínsecas de esta tecnología que dan lugar a la expresión estable de compuestos inmunológicos en diversos sistemas vegetales a gran escala.

Posteriormente, en el capítulo tercero, se describe el marco jurídico existente en relación con la Agrobiotecnología, debido a que es un sector sometido a una compleja estructura normativa y su comprensión es un paso necesario para entender conceptualmente a las vacunas comestibles desde diferentes puntos de vista: como OMGs, como nuevos alimentos, y como activos intangibles.

Aunque el marco jurídico de esta tesis tiene como horizonte geográfico la norma europea y en particular la española, la dimensión global de esta tecnología hace necesario abordar esta legislación desde un marco normativo internacional. Por ello, se citan ciertos acuerdos y tratados internacionales y se hace una breve reseña sobre aquellas diferencias sustanciales respecto a Estados Unidos, como referente internacional de Agrobiotecnología.

2. ASPECTOS TÉCNICOS

2.1. INMUNOLOGÍA Y RESPUESTA INMUNE

La Inmunología es una rama amplia de la biología y de las ciencias biomédicas que se ocupa del estudio del sistema inmunitario en todos los organismos, entendiendo como tal al conjunto de órganos, tejidos y células que en los vertebrados tienen como función biológica el reconocer elementos extraños o ajenos dando una respuesta (respuesta inmunológica).

Cabe destacar, que la respuesta inmune de un organismo se ve modulada y se adapta en función de los diferentes patógenos que la generan. Por ello, esta ciencia trata, entre otras cosas, del funcionamiento fisiológico del sistema inmunitario, tanto en estadios de salud como de enfermedad, de las alteraciones en las funciones del sistema inmunitario, así como de las características físicas, químicas y fisiológicas de los componentes del sistema inmunológico *in vitro* e *in vivo*.

En la actualidad la inmunología es una ciencia autónoma y madura, pero sus orígenes han estado estrechamente ligados a la Microbiología. Su objeto consiste en el estudio de las respuestas de defensa que han desarrollado los animales frente a la invasión por microorganismos o partículas extrañas, aunque su interés se ha volcado especialmente en el estudio de los mecanismos frente a agentes reconocidos por el cuerpo como no propios, así como de su neutralización y degradación (Abbas *et al.*, 2008).

El sistema inmunológico está formado por un conjunto de mecanismos que protegen al organismo de infecciones por medio de la identificación y eliminación de agentes patógenos. Debido a que los patógenos abarcan desde virus hasta parásitos, esta tarea es extremadamente compleja y las amenazas deben ser detectadas con absoluta especificidad

distinguiendo los patógenos de las células y tejidos normales del organismo. A ello hay que sumar la capacidad evolutiva de los patógenos que les permite crear formas de evitar la detección por el sistema inmunológico y así poder infectar al organismo hospedador o huésped (Goldsby *et al.*, 2004).

Para protegerse, los organismos vivos han desarrollado varios mecanismos para reconocer y neutralizar patógenos. Incluso los microorganismos simples -como las bacterias- poseen un sistema de enzimas que las protegen contra infecciones virales. Otros mecanismos inmunológicos básicos evolucionaron en las antiguas células eucariotas y permanecen hoy en sus descendientes modernos: plantas, peces, reptiles e insectos. Estos mecanismos incluyen: la producción de péptidos antimicrobianos llamados defensinas, el proceso de fagocitosis y el sistema del complemento (Karnovsky, 1981).

Sin embargo, los mecanismos más sofisticados se desarrollaron de forma conjunta con la evolución de los vertebrados (Beck *et al.*, 1996). El sistema inmunológico de los vertebrados -como el de los seres humanos- comprende varios tipos de proteínas, células, órganos y tejidos, que interactúan en una red elaborada y dinámica. Esta respuesta inmune más compleja incluye la capacidad de adaptarse para así reconocer patógenos concretos en forma más eficiente. El proceso de adaptación crea memorias inmunológicas y permite brindar una protección más efectiva durante futuros encuentros con estos patógenos. Este proceso de inmunidad adquirida es la base de la vacunación.

De esta forma el sistema inmune de los vertebrados posee mecanismos altamente específicos para detectar, destruir y eliminar agentes extraños. Las armas específicas del sistema inmune cambian extremadamente rápido en respuesta a la aparición de nuevos estímulos, mientras que las inespecíficas son relativamente constantes.

La evolución de una enfermedad infecciosa en un individuo involucra una secuencia de interacciones entre el microorganismo y el hospedador dentro de las que se encuentran por un lado la invasión, el desarrollo y la colonización del hospedador por parte del microorganismo y la fuerte presión que ejercen los mecanismos de la respuesta inmune por otro. El resultado de esta interacción desembocará en enfermedad o resistencia.

La evasión de la inmunidad es un mecanismo desarrollado por todos los microorganismos y ocurre como resultado de la presión que el sistema inmune ejerce sobre la biología de los microorganismos en la interrelación huésped-parásito con la consecuente ocurrencia o no de la enfermedad. Por lo tanto, el conocimiento de las características esenciales de la inmunidad hacia los diferentes patógenos es esencial en la estrategia de obtención de una vacuna. La figura 2.1 representa un esquema de los diferentes tipos de respuesta y mecanismos de defensa que posee un individuo de forma general.



Figura 2.1 Respuesta Inmune y mecanismos de defensa

Fuente: <http://www.inmunologiaenlinea.com>. Portal de la Universidad de Córdoba

2.2. LA VACUNACIÓN

La exposición artificial a un agente infeccioso, generalmente denominado procedimiento de vacunación, es el proceso que permite generar resistencia a una enfermedad infecciosa mediante la administración previa de dicho agente infeccioso, en forma de vacuna (Asociación Española de Vacunología, 2005).

El mecanismo de acción de las vacunas de forma global cumple con una serie de principios generales. El primer paso del proceso de vacunación consiste en la caracterización y la purificación o síntesis de los componentes que confieren la inmunogenicidad a la vacuna, es decir, los antígenos. El segundo paso, es la administración de la vacuna quien activará la respuesta de los linfocitos B quienes a su vez comenzaran a sintetizar anticuerpos capaces de neutralizar a los antígenos procedentes de la vacuna. Al mismo tiempo que se sintetizan anticuerpos, se induce la formación y proliferación de células de memoria que permanecerán en el torrente sanguíneo con el fin de dotar al organismo de un sistema de respuesta inmune rápida en el caso de una nueva infección, tal y como se observa en la figura 2.2 (Genoma España/CIBT-FGUAM, 2004).

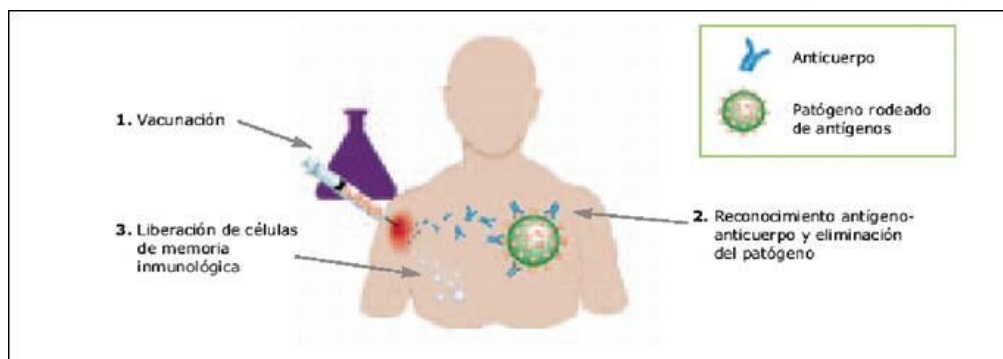


Figura 2.2 Mecanismo de acción de las vacunas

Fuente: Access Excellence, National Health Museum Review, 2005. Esquema: Genoma España/ CIBT-FGUAM, 2004

Desde que en 1796 Edward Jenner descubriera la primera vacuna frente a la viruela, un número considerable de vacunas basadas en microorganismos muertos (inactivados) o vivos atenuados han sido utilizados con gran éxito para el control de muchas enfermedades. Sin embargo, este tipo de vacunas, denominadas vacunas clásicas, presentan algunas limitaciones importantes (SEBIOT, 2000):

- Aparición de efectos secundarios y complicaciones posteriores a la vacunación sobre todo en individuos inmunodeprimidos o inmunocomprometidos.
- Presencia del patógeno activo en la vacuna debido a un proceso de inactivación o atenuación defectuoso o insuficiente.
- Reversión por mutación del agente infeccioso atenuado a la forma virulenta.

Como tantas otras ciencias, la Inmunología presenta un prolongado período fundamentado en observaciones y aproximaciones meramente empíricas. La resistencia a posteriores ataques de una enfermedad infecciosa fue ya recogida en escritos de la antigüedad; el historiador griego Tucídides (464-404 a.C.) narra que en una epidemia acaecida durante la guerra del Peloponeso, los enfermos eran atendidos solo por aquellos que habían sobrevivido previamente a la enfermedad, en la seguridad de que éstos no volverían a ser contagiados (Lindquister, 2006).

Igualmente, en la antigua China se había observado que las personas que en su niñez habían padecido la viruela no la adquirían más adelante en su vida. Los mismos chinos, en el siglo XI a. C., fueron los primeros en intentar una aplicación de estas observaciones que indicaban la inducción de un estado protector por medio de una forma suave de la enfermedad: la inhalación de polvo de escaras de viruela provocaba un ataque suave que confería resistencia ante infecciones posteriores (Silverstein, 1989).

El primer acercamiento a la inmunización con criterios racionales fue realizado por el médico inglés Edward Jenner, tras su constatación de que las vaqueras que habían adquirido la viruela vacunal (una forma benigna de enfermedad que sólo producía pústulas en las manos) no eran atacadas por la grave y deformante viruela humana. En mayo de 1796 inoculó a un niño con fluido procedente de pústulas vacunales; semanas después el niño fue inyectado con pus de una pústula de un enfermo de viruela, comprobando que no quedaba afectado por la enfermedad. Jenner publicó sus resultados en 1798 pronosticando que la aplicación de su método podría llegar a erradicar la viruela. Jenner fue el primero en recalcar la importancia de realizar estudios clínicos de seguimiento de los pacientes inmunizados, consciente de la necesidad de contar con controles fiables (Lindquister, 2006).

Tras estas observaciones empíricas, el primer abordaje plenamente científico de problemas inmunológicos se debió, a Louis Pasteur quien en 1880 estudiando la bacteria responsable del cólera aviar, observó que la inoculación en gallinas de cultivos poco virulentos las protegía de contraer la enfermedad cuando posteriormente eran inyectadas con cultivos normales virulentos. De esta forma, se obtuvo la primera vacuna a base de microorganismos atenuados. Fue precisamente Pasteur quien asignó el **término vacuna**, en honor del trabajo pionero de Edward Jenner. En los años siguientes Pasteur abordó la inmunización artificial para otras enfermedades; concretamente, estableció de forma clara que cultivos de *Bacillus anthracis* atenuados por incubación a 45 °C conferían inmunidad a ovejas expuestas a contagio por carbunco. Una famosa demostración pública de la bondad del método de Pasteur tuvo lugar en Pouilly le Fort, el dos de junio de 1881, cuando ante un gentío expectante se pudo comprobar la muerte del grupo control de ovejas y vacas no inoculadas, frente a la supervivencia de los animales vacunados (Debre y Forster, 2000; Tiner, 1990).

Transcurridos unos años, el propio Luis Pasteur abordaría la inmunización contra la rabia, enfermedad de la que se desconocía el agente causal. Pasteur observó que cuando se mantenían al aire durante cierto tiempo extractos medulares de animales infectados, se perdía virulencia por lo que dichos extractos se podrían emplear eficazmente como vacunas. El 6 de julio de 1885 Pasteur realizó la primera vacunación antirrábica en humanos sobre un niño que había sido mordido gravemente por un perro rabioso. Este hecho le valió a Pasteur el reconocimiento universal y supuso el apoyo definitivo a su método de inmunización. Estos logros determinaron, en buena medida, la creación del Instituto Pasteur, que muy pronto reunió a un selecto grupo de científicos, que enfocarían sus esfuerzos en diversos aspectos relacionados con la inmunización y su base molecular. (Lindquester, 2006; Debre y Forster, 2000; Tiner, 1990).

A finales del siglo XIX existían dos teorías opuestas sobre los fundamentos biológicos de las respuestas inmunes. Por un lado, el zoólogo ruso Ilya Ilich Mechnikov, que había realizado observaciones sobre la fagocitosis en estrellas de mar y pulgas de agua, estableció, a partir de 1883, su "**Teoría de los fagocitos**", tras estudiar fenómenos de englobamiento de partículas extrañas por los leucocitos de conejo y de humanos. Tras estas observaciones experimentales, Ilya Ilich Mechnikov afirmó que existían fenómenos de eliminación de agentes patógenos por medio de "células devoradoras" (fagocitos) que actuaban en animales vacunados contra el carbunco, y explicó la inmunización como una "habitación" del hospedador a la fagocitosis.

Por otro lado y de forma paralela la escuela alemana de Heinrich Hermann Robert Koch, considerado el fundador de la **bacteriología**, hacía hincapié en la importancia de los mecanismos humorales (teoría de la inmunidad humoral). El investigador Heinrich Hermann Robert Koch se hizo famoso por descubrir el bacilo de la tuberculosis en 1882 y el bacilo del cólera en 1883, así como por el desarrollo de los llamados "*Postulados de Koch*".

Más tarde, todos estos hallazgos le supusieron la obtención del Premio Nobel de Medicina en el año 1905 (Brock, 1999; Morris, 2007).

En ese mismo tiempo, los científicos Emil von Behring y Shibasaburo Kitasato, como resultado de sus trabajos sobre las toxinas del tétanos y de la difteria, observaron que el cuerpo produce "**antitoxinas**" (lo que hoy en día conocemos como anticuerpos) que tendían a neutralizar las toxinas de forma específica, y evidenciaron que el suero que contiene antitoxinas es capaz de proteger a animales expuestos a una dosis letal de la toxina correspondiente (Orent, 2004; Porter, 2004; Kyle, 1999).

En 1897, el investigador Rudolf Kraus visualizó por primera vez el fenómeno que hoy conocemos como reacción antígeno-anticuerpo, al observar el enturbiamiento de un filtrado bacteriano al mezclarlo con un suero inmune específico (antisuero). Durante cierto tiempo se creyó que el suero poseía distintas actividades inmunes humorales, cada una denominada de forma diferente: antitoxina (neutralización de toxinas), precipitina (precipitación de toxinas), aglutinina (aglutinación de bacterias) y bacteriolisina (lisis de bacterias). Hubo que esperar a los años 30 para caer en la cuenta que todas estas actividades se debían a un único tipo de entidad, que fue bautizado como **anticuerpo** (Lindquister, 2006).

En 1898 Jules Bordet descubre otro componente sérico relacionado con la respuesta inmunitaria, al que bautiza como "**alexina**", caracterizado por su termolabilidad e inespecificidad que más tarde se bautizaría con el nombre de "complemento" propuesto por el investigador Paul Ehrlich. Jules Bordet desarrolló más tarde el primer sistema diagnóstico para la detección de anticuerpos, basado en la fijación del complemento y que llega a nuestros días (Lindquister, 2006).

En 1900 Paul Ehrlich da a luz su "*Teoría de las cadenas laterales*", en la que formula una explicación de la formación y especificidad de los anticuerpos, estableciendo una base química para la interacción de éstos con los antígenos (Janeway *et al*, 2001; Lindqueter, 2006). De forma paralela en 1900, el zoólogo ruso anteriormente citado Rudolf Kraus, cuando ya estaba integrado en el Instituto Pasteur, propugnó la idea de que los fagocitos segregan enzimas específicos, análogos a los "fermentos" digestivos. Esta teoría de los **fagocitos** constituyó el núcleo de la teoría de la inmunidad celular, de modo que la fagocitosis se consideraba como la base principal del sistema de defensa inmune del organismo (Schmalstieg *et al*, 2008; Breathnach, 1984; Karnovsky, 1981).

La conciliación de las dos teorías (celular y humoral) se inició con los trabajos de Almoth Wrigth y Stewart R. Douglas, quienes en 1904 descubren las **opsoninas**, anticuerpos presentes en los sueros de animales inmunizados y que, tras unirse a la superficie bacteriana, incrementan la capacidad fagocítica de los leucocitos. Será mucho más tarde, en los años 50, cuando se reconoce científicamente que los linfocitos son las células responsables de los dos componentes, humoral y celular, de la inmunidad (Silverstein, 1989).

El área de la **Inmunopatología** inicia su andadura con el fenómeno de anafilaxia producido por introducción en un animal de un suero de una especie distinta lo que a su vez abriría la posibilidad de métodos de serodiagnóstico, con aplicaciones múltiples en Medicina, Zoología y otras ciencias biológicas. En 1905 Clemens von Pirquet sugiere que la enfermedad del suero (un fenómeno de hipersensibilidad) tiene relación directa con la producción de anticuerpos contra el suero inyectado, introduciendo el término de **alergia** para referirse a la reactividad inmunológica alterada.

La inmunología cobra un gran impulso en las primeras décadas del siglo XX con los trabajos de Karl Landsteiner quien realiza su primera contribución importante con la descripción del sistema de antígenos naturales de los **eritrocitos humanos**. Este hallazgo se completó con la colaboración de Emil Von Dungern y Ludwig Hirzfeld quienes en 1908 determinaron las subdivisiones del **grupo A** y el estudio de su transmisión hereditaria.

Estos trabajos sirvieron de estímulo para avanzar en el conocimiento de la especificidad química de los antígenos que determinan la formación de anticuerpos. Karl Landsteiner estudió sistemáticamente durante los años 20 las características de inmunogenicidad y especificidad de las reacciones de antígenos con anticuerpos, valiéndose de la modificación química de antígenos, denominando **haptenos** a aquellos grupos químicos que por sí mismos no desencadenan formación de anticuerpos, pero sí lo hacen tras ser conjugados a proteínas portadoras (Janeway *et al.*, 2001; Lindquister, 2006).

La cuestión de las **reacciones antígeno-anticuerpo** se convirtió en otra polémica entre escuelas de inmunología y medicina hasta finales de los años 20. Mientras Paul Ehrlich y sus seguidores mantenían que estas reacciones tienen una base puramente química, Jules Bordet y sus discípulos las explicaban como fenómenos físicos de reacciones entre coloides. La resolución del debate no llegó hasta finales de los años 30, cuando llegaron los avances técnicos como la electroforesis, la cromatografía, la ultracentrifugación y el microscopio electrónico.

Otra de las grandes controversias de los primeros tiempos de la Inmunología se refería al tipo de mecanismos postulados para explicar la **especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo**. Se propusieron dos tipos de teorías: la selectiva y la instructiva. La primera formulación de tipo instructivo se debió a Paul Ehrlich quien desarrolló la teoría de la

inmunidad de cadena lateral y estableció la base química para la especificidad de la respuesta inmunológica, que explica cómo los receptores de la parte externa de las células se combinan con toxinas para producir “cuerpos inmunes” capaces de combatir la enfermedad. Su teoría se basaba en que las células tienen en su superficie moléculas receptoras específicas (cadenas laterales) que sólo se unen a determinados grupos químicos de las moléculas de toxina; si las células sobreviven a esta unión, se produce un excedente de cadenas laterales, algunas de las cuales son liberadas a la sangre en forma de “antitoxinas circulantes” (lo que hoy llamamos anticuerpos) y que le valió el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1908 que compartió con el bacteriólogo ruso Ilya Mechnikov en reconocimiento al trabajo de ambos en el terreno de la química inmunológica.

Una importante faceta de la inmunología de la primera mitad del siglo XX fue la obtención de **vacunas**, tal y como las conocemos en la actualidad. Se lograron toxoides inmunogénicos a partir de toxinas bacterianas que se aplicaban con formol, como fueron el toxoide tetánico administrado por el investigador Robert Eisler en 1915 y el toxoide diftérico por Alexander T. Glennie en 1921. En 1922 se desarrolla por primera vez la vacuna BCG (Bacilo de Calmette y Guerin) contra la tuberculosis, haciendo uso de una cepa atenuada de *Mycobacterium tuberculosis*, el bacilo de Calmette-Guérin (Breathnach, 1984).

En esos años, los científicos Gerald M. Edelman y Rodney R. Porter establecen la estructura de las inmunoglobulinas. Durante este periodo de tiempo se descubre que la síntesis de anticuerpos ocurre en las células plasmáticas, aunque en este momento éstas no se relacionan aún con los linfocitos, de hecho durante muchos años posteriores se siguió creyendo que los linfocitos eran células pasivas, sin función inmune aparente. Por aquella época se describe, también, la diversidad de inmunoglobulinas, llegándose al establecimiento de una nomenclatura. Enseguida comienza la era de los múltiples

experimentos sobre timectomía en ratones neonatos y sobre bursectomía en aves, así como los de reconstitución de animales irradiados, con timocitos y células de la médula ósea, y que permiten afirmar el papel esencial de los **linfocitos**, encuadrarlos en tipos funcionales T y B, y relacionarlos con las respuestas inmunes celular y humoral, respectivamente (Janeway *et al.*, 2001; Goldsby *et al.*, 2004).

En contraposición a estos años de investigación anteriormente citados, durante los años 30 y 40 se daba más crédito a las teorías instructivas. En ellas, el antígeno juega un papel central a la hora de determinar la especificidad del anticuerpo correspondiente. Una contribución esencial a las ideas sobre el mecanismo de formación de los anticuerpos la realizó el australiano Frank Macfarlane Burnet en 1941 al establecer su teoría de la **selección clonal**; ésta argumenta que cada linfocito B, antes de establecer contacto con el antígeno, sintetiza un único tipo de anticuerpo, específico para cada antígeno (determinante antigénico), de modo que la unión del antígeno causa la proliferación clonal del linfocito B, con la consecuente síntesis incrementada de anticuerpos específicos. Esta teoría resucitó las ideas selectivas, y actualmente es el paradigma aceptado por todos los inmunólogos.

En esa época se sugería que el antígeno sirve como un “molde” alrededor del cual se pliega la molécula del anticuerpo y que de esta forma adquiere su especificidad. Un ferviente propulsor de esta teoría fue investigador americano Linus Pauling y le valió Premio Nobel de Química en 1954. Estas ideas podían encajar en aquellos tiempos en que aún existían muchas lagunas de los conocimientos, pero más tarde, tras los nuevos descubrimientos en Biología Molecular, fueron descartadas.

Más tarde, el investigador Niels Jerne realizó nuevas aportaciones y refinamientos a la teoría de la selección clonal desarrollada por Frank Macfarlane Burnet, proponiendo un

modelo de regulación inmune conocido como teoría de las redes idiotípicas, estos desarrollos le llevó a obtener, el Premio Nobel en Medicina en 1984.

Los avances en Inmunología durante los últimos años del siglo XX fueron espectaculares, consolidando a ésta como ciencia independiente. Entre los hitos más recientes hay que citar la técnica de producción de **anticuerpos monoclonales** a partir de hibridomas que presenta una enorme gama de aplicaciones en biomedicina, o el conocimiento de los fenómenos de reorganización genética responsables de la expresión de los genes de inmunoglobulinas, por el médico Susumu Tonegawa quien gracias a sus trabajos ha dado a conocer cuántos genes de inmunoglobulinas tiene el ser humano, y cómo dan lugar a multitud de anticuerpos específicos, por lo que fue galardonado con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1987.

Como se puede observar, el siglo XX fue un periodo con grandes avances en el campo de la Inmunología aunque los desafíos en el futuro de esta tecnología son varios. Uno de estos desafíos es sin duda la supresión de enfermedades infecciosas a escala global, por ejemplo enfermedades como la gripe aviar, el SIDA o la malaria, frente a cuyas infecciones no se dispone de vacunas efectivas y causan numerosas muertes al año. En muchos casos, la dificultad de encontrar un remedio efectivo se debe a la aparición de mutantes virales que escapan a la respuesta inmune del individuo o a la aparición de resistencias de los patógenos a los medicamentos, en cuyo caso el tratamiento no ejerce el efecto deseado.

Otro de los objetivos de futuro de la inmunología se centra en encontrar mejores remedios para las enfermedades autoinmunes. En este área se esperan nuevos inmunomoduladores de gran capacidad de acción, por ejemplo en la artritis reumatoide y otras enfermedades de tipo autoinmune. Por otro lado, también se está trabajando en mejorar los resultados en trasplantes para evitar que el individuo destruya el órgano

trasplantado y su propio sistema inmune tolere de manera selectiva el trasplante al que ha sido sometido y evitar así las complicaciones de la inmunosupresión tradicional, como por ejemplo son la aparición de infecciones virales, tumores y otros.

Mientras tanto, gracias a los desarrollos actuales en biología molecular y genética, la tercera generación de vacunas biotecnológicas ya ha comenzado. Hasta ahora para desarrollar vacunas era necesario purificar o producir las proteínas del patógeno lo cual es costoso y poco estable, y que obliga en la mayoría de los casos a administrar varias dosis de vacuna.

Todo ello dificulta por ejemplo las campañas de vacunación en países en desarrollo con medios técnicos escasos y malas comunicaciones, donde en muchos casos no es posible administrar una segunda dosis de la vacuna. Las vacunas de última generación podrán permitir el desarrollo de campañas de vacunación más baratas y sin necesidad de administrar más de una dosis ya que se introduce parte del ADN de un patógeno dentro de un individuo y éste adquiere la capacidad de producir una respuesta frente a ciertos componentes del patógeno.

Como se puede observar en la actualidad, la inmunología se ha convertido en una disciplina que se interrelaciona con diferentes áreas de la medicina y que ha conseguido revolucionar las pautas de tratamiento frente a millones de afecciones que hasta la fecha no podían ser tratadas ni a nivel paliativo ni a nivel de profilaxis, como puede ser la reveladora vacuna desarrollada frente cáncer cervical o carcinoma del cuello uterino causado por el virus del papiloma humano, en la que tuvieron un papel fundamental los doctores Ian Fraser y Jian Zhou quienes desarrollaron en 2007 la vacuna comercialmente conocida como Gardasil®.

De acuerdo con la información publicada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en los últimos 3 años, las vacunas que están obteniendo mayor protagonismo son las vacunas contra las principales cepas del virus de la gripe. Tanta es la importancia, que durante el año 2009 se llegó a declarar una situación de pandemia para la gripe A (H1N1), desencadenando una situación de emergencia que ha acelerado las gestiones necesarias para que las empresas farmacéuticas pusieran en el mercado la vacuna para esta cepa de gripe A (OMS, 2009).

Todos estos desarrollos han dado lugar a hitos importantes en la historia de las vacunas (tabla 2.1) que, cuando se revisan de forma global, demuestran el salto en conocimiento que se produjo entre el siglo XIX y el siglo XX, del mismo modo que entre el siglo XX y siglo XXI, gracias a los conocimientos derivados de la tecnología del ADN recombinante.

Tabla 2.1 Hitos en la historia de las vacunas clásicas

Fuente: Basado en Guía Práctica de las vacunaciones, 2002 y documentación personal.

AÑO	HITOS
1721	(Mary Wortkey Montagu) Introducción de la variolización en Gran Bretaña
1796	(Jenner) Vacunación antivariólica (material desecado de la vacuna)
1885	(Pasteur) Vacuna antirrábica (profilaxis de postexposición)
1886	(Ferrán) Inoculación preventiva contra el cólera morbo
1886	(Salmon y Smith) Vacuna inactivada frente a cólera en palomas
1888	(Roux y Yersin) Descubrimiento de la toxina diftérica
1896	(Kolle, Wright, Pfeiffer) Vacunas inactivadas frente a fiebre tifoidea
1896	(Kolle) Vacuna inactivada frente al cólera
1897	(Haffkine) Vacuna inactivada frente a peste
1923	(Madsen) Vacuna frente a tos ferina (células enteras)
1923	(Ramon, Glenn y Hopkins) Toxoides diftérico
1927	(Ramon y Zoeller) Toxoides tetánico
1927	(Calmette y Guérin) Vacuna BCG
1931	(Goodpasture) Cultivo de virus en membrana coriolantoidea del huevo
1935	(Theiler) Vacuna frente a la fiebre amarilla (virus vivos)
1936	(Smith, Francis y Magill) Vacuna frente a la gripe
1938	(Cox) Vacuna frente a Rickeettsia
1954	(Salk) Vacuna antipolio de virus muertos
1957	(Sabin) Vacuna antipolio de virus vivos atenuados
1963	(Enders, Schwarz) Vacunas atenuadas e inactivadas frente a sarampión
1967	(Hilleman) Vacuna antiparotiditis
1967	(Koprowski, Wiktor) Vacuna antirrábica en células diploides humanas
1969	(Plotkin, Prinzie, Meyer, Parkmann) Vacuna antirrubéólica
1968-1971	(Gotschlich, Artenstein) Vacunas frente a meningococo A y C
1971	(Top) Vacuna frente a adenovirus
1971-1972	(Schneerson, Anderson) Vacuna frente a H. Influenzae tipo B
1973	(Takahashi) Vacuna frente a varicela
1974	(Wong) Vacuna frente a fiebre tifoidea VI purificado
1976	(Austrian) Vacuna frente a neumococo
1976-1978	(Maupas, Hilleman) Vacuna plasmática frente a hepatitis B
1980	(Schneerson, Robins) Primera vacuna conjugada frente a H. influenzae tipo B
1985	Vacuna de recombinación genética frente a hepatitis B
1986	(Provost) Vacuna inactivada frente a hepatitis A
1997	Introducción de vacunas acelulares en el calendario de la American Academy of Pediatrics
1998	Vacuna frente a la enfermedad de Lyme
2000	Vacuna neumocócica 7-valente conjugada
2000-2001	Vacuna meningocócica C conjugada
2002	Alianza Mundial para Vacunas e Inmunización (OMS-55ª Asamblea Mundial de la Salud)
2006	Vacuna contra la gripe aviar (H5N1)
2007	La vacuna contra el Virus de Papiloma Humano, que previene el cáncer de cérvix
2009	Vacuna contra la gripe A (H1N1)

2.2.1. Vacunas de nueva generación

Como se ha adelantado en el apartado anterior, en los últimos años la tecnología del ADN recombinante ha permitido una nueva generación de soluciones terapéuticas de gran interés entre las que destacan las vacunas. El descubrimiento y decodificación del genoma de bacterias y virus, ha abierto la puerta al desarrollo de este tipo de vacunas de forma generalizada, existiendo múltiples variantes de las mismas a día de hoy.

Las **vacunas de nueva generación** se desarrollan a partir de la ingeniería genética, técnica que permite, entre otras cosas, eliminar los genes virulentos de un agente infeccioso sin alterar la capacidad de estimular una respuesta inmune del individuo en el cual es inoculado. En este caso, el organismo modificado genéticamente, en sí mismo puede usarse como una vacuna viva. Este tipo de vacunas se conoce como **vacunas vivas delecionadas**, un ejemplo de este tipo de vacunas lo constituye la vacuna para el virus de la Enfermedad de Aujeszky (EA), en el que eliminando genes que codifican proteínas ligadas a la virulencia, se han conseguido seleccionar cepas atenuadas de manera estable y segura que pueden ser directamente inoculadas.

Otro tipo de vacunas de nueva generación son las **vacunas de subunidades**, que consiste en la producción de una proteína o proteínas de un agente infeccioso sin necesidad del propio microorganismo, mediante técnicas de ingeniería genética que fragmentan el ADN correspondiente, y lo expresan en diferentes vectores de expresión *in vitro*. Así, se producen grandes cantidades de una única proteína (subunidad) de un agente infeccioso, que pueden ser utilizadas como vacuna.

Si bien, el diseño de las vacunas de subunidades ha representado un gran avance, ya que evita el riesgo de inocular microorganismos enteros, en un comienzo esta estrategia no solucionaba el inconveniente de cultivar y manipular microorganismos potencialmente patógenos. Fue en este caso cuando se optó por la posibilidad de manipular los genes de dichos patógenos y prescindir de los microorganismos, dando impulso a una nueva generación de vacunas (Genoma España/FGUAM, 2004).

Con el estudio de la estructura y funcionalidad del ADN y del desarrollo de técnicas de biología molecular, en la década de los ochenta, se comenzaron a desarrollar las vacunas recombinantes y las vacunas de ADN, en donde como pilar fundamental para el diseño de estas vacunas, se parte del conocimiento detallado del genoma del patógeno (figura 2.3).

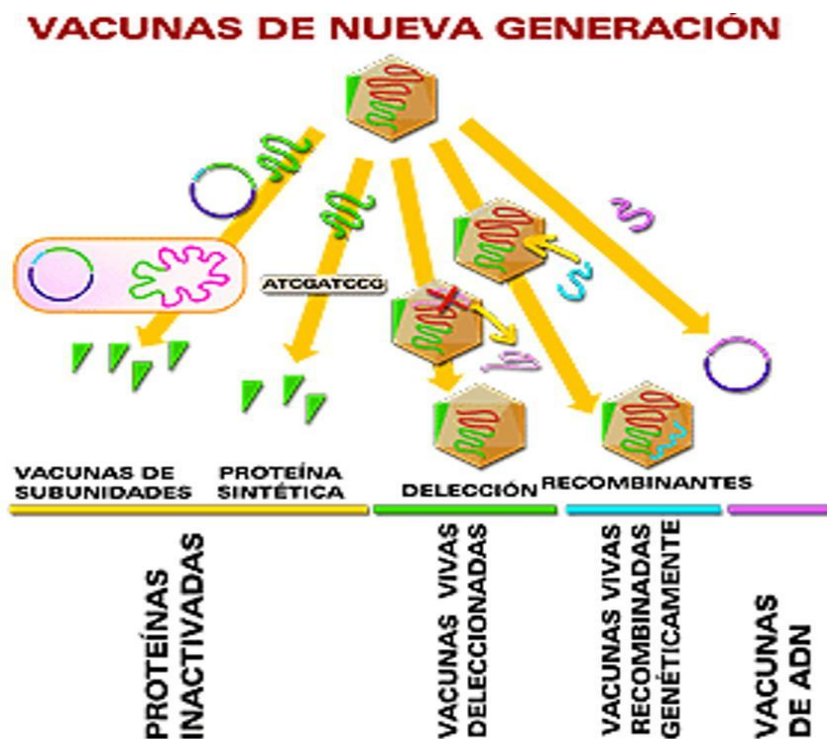


Figura 2.3 Vacunas de Nueva Generación
Fuente: <http://sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/ca091.htm>

Para la obtención de las **vacunas recombinantes** se aíslan y se clonan los genes que codifican las proteínas que provocan la respuesta inmune (el antígeno) y se introducen mediante técnicas de ingeniería genética en un huésped alternativo no patógeno (bacterias, levaduras o células de mamíferos) para que lo produzca en cantidad en el laboratorio. Mediante esta técnica surge en 1986 la primera vacuna recombinante que consiste en la producción de un antígeno del virus causante de la hepatitis B dentro de levaduras (Genoma España/FGUAM, 2004).

Por otro lado, las vacunas de nueva generación pueden ser **vacunas atenuadas**, en las que se eliminan o inactivan selectivamente, mediante técnicas de ingeniería genética, los genes de virulencia de un agente infeccioso manteniendo la habilidad de provocar una respuesta inmune.

En el caso de las **vacunas de ADN**, se utiliza únicamente una porción del ADN purificado capaz de codificar para la proteína que estimula la respuesta inmune, es decir, que no se utiliza un microorganismo para obtener el antígeno, sino que el gen se introduce directamente en el individuo y las propias células del individuo sintetizan el antígeno que desencadena la respuesta inmune.

Otro tipo de vacunas de ADN que está revolucionando la inmunología son las **vacunas comestibles**, que están orientadas para vacunaciones en países en vías de desarrollo, en los que los impedimentos técnicos, económicos y políticos dificultan que la población tenga acceso a ciertas terapias básicas de países industrializados, como son las vacunas.

Las plantas modificadas genéticamente como sistemas para obtención de vacunas presentan una expresión multigeneracional estable de las proteínas de interés

inmunológico y hasta el momento, las partes comestibles que ofrecen mayores posibilidades de ser usados para la producción de vacunas y otras proteínas de interés biofarmacéutico son los granos, las semillas oleosas como el maíz, trigo y soja y los frutos y tubérculos por su alto contenido en azúcares.

De esta forma, las vacunas comestibles pretenden acercar la medicina a la población de estos países de la forma más natural que existe, es decir, mediante el consumo de frutas y verduras que previamente contienen sustancias antigénicas capaces de desencadenar una respuesta inmune efectiva.

Es por tanto necesario conocer las diversas posibilidades que ofrece la Agrobiotecnología para la obtención de las vacunas comestibles como productos de interés terapéutico.

2.3. IMPORTANCIA DE LA AGROBIOTECNOLOGÍA

La biotecnología (literalmente tecnología de lo vivo) es una macrodisciplina interactiva donde participan algunos aspectos de la biología, de la química y de la ingeniería de sistemas y de procesos, que permite la obtención de distintos tipos de productos así como ofrecer soluciones de distinta índole en el sector de la industria alimentaria, farmacéutica, química y ambiental.

El término "Biotecnología" fue acuñado por el ingeniero húngaro Karl Ereky en 1917, como *“todos los métodos utilizados para convertir materia prima en bienes utilizando en alguna etapa organismos vivos o sus productos”* (Gutiérrez-Correa, 2005). Y la primera publicación científica que hizo alusión al término Biotecnología apareció en 1961, llamada *“Biotechnology and Bioengineering”*.

Hay diferentes hitos en el desarrollo de la biotecnología, uno de los más significativos sucedió en 1970 cuando Hamilton Smith y Daniel Nathans descubrieron una enzima (enzima de restricción) capaz de reconocer y cortar el ADN en secuencias específicas; este descubrimiento les hizo ganar el Premio Nobel de fisiología y medicina, compartido con Werner Arber, en 1978. También tuvo gran importancia el descubrimiento por parte de Kary B. Mullis (USA) de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permite en muy poco tiempo amplificar cualquier gen o fragmento de ADN. Tal descubrimiento le valió la concesión del Premio Nobel en Química en 1993, premio compartido con Michael Smith de la Universidad de British Columbia, Vancouver (Canadá).

Estos descubrimientos supusieron el desarrollo de lo que hoy conocemos como Ingeniería Genética, Tecnología del ADN recombinante o simplemente Biotecnología moderna que

permite el aislamiento, manipulación y recombinación de fragmentos muy pequeños de ADN, en un virus, microorganismo, célula de animal o de plantas, lo que permite realizar verdaderas construcciones génicas. Por consiguiente, es con el desarrollo de la Tecnología del ADN recombinante a partir de 1973, cuando la Biotecnología entra en una etapa de nuevas y mayores posibilidades económicas.

Según el Convenio de Diversidad Biológica, celebrado en Río de Janeiro, en 1992, la Biotecnología, en términos generales, se puede definir como *“cualquier aplicación tecnológica que utiliza sistemas biológicos, organismos vivos, o algunos de sus derivados para crear o modificar productos o procesos para usos específicos”*. Este término puede ser interpretado en un sentido más estricto, así la Declaración de la FAO sobre Biotecnología, 2000 considera como Biotecnología *“al conjunto de diferentes tecnologías moleculares tales como la manipulación y transferencia de genes, el genotipado de ADN y la clonación de plantas y animales”*.

Se pueden considerar dos niveles de desarrollo de la biotecnología: la **biotecnología convencional** en la que los procesos biológicos no son manipulados a nivel molecular y la ingeniería empleada es básicamente la de fermentaciones convencionales, y la **biotecnología moderna o de última generación** en la que los procesos biológicos son manipulados a nivel celular, principalmente molecular, y la ingeniería empleada es la de procesos y sistemas con un alto grado de automatización de controles. De esta forma, el proceso biotecnológico consiste en un conglomerado de diferentes elementos como un sistema biológico, una materia prima y un control de proceso, los cuales se integran en un medio oportuno donde ocurre el proceso biológico en forma óptima dando lugar a un producto modificado genéticamente en alguno de sus parámetros (figura 2.4).

Para poder entender con mayor precisión los diferentes matices que diferencian a ambas tecnologías (biotecnología convencional y biotecnología moderna), es necesario

profundizar sobre las diferentes definiciones que han resurgido en los últimos años. Para ello podemos tomar como referencia la definición facilitada por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE), que define la Biotecnología de una forma global como “*un conjunto de técnicas que modifican organismos vivos (o parte de los mismos), transforman sustancias de origen orgánico o utilizan procesos biológicos para producir un nuevo conocimiento, o desarrollar productos y servicios*”. Esta definición incluye ambas biotecnologías ya que, engloba desde las distintas técnicas de producción utilizadas desde hace miles de años por la humanidad, como son utilización de levaduras para la fermentación de pan o de bebidas alcohólicas, hasta las diferentes técnicas de manipulación genética avanzada utilizadas en la actualidad.

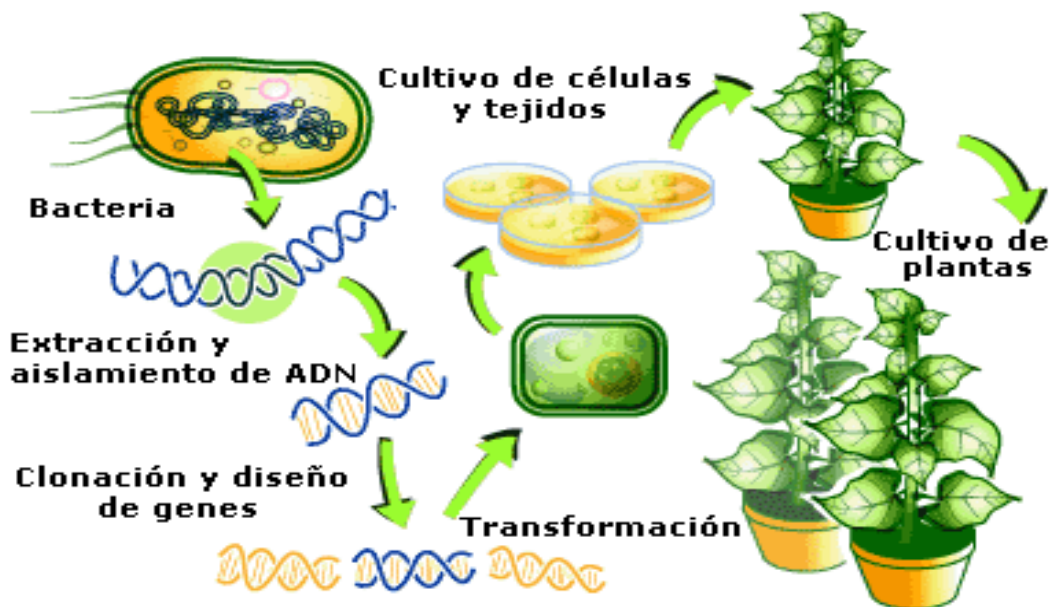


Figura 2.4 Diseño de una planta modificada genéticamente

Fuente: www.kensbiorefs.com/MolecularGen.html

La característica principal que presenta la actividad biotecnológica convencional se basa en el fenómeno de observación; esta característica era imprescindible para poder identificar qué variedades vegetales o animales eran más productivas o mejoraban la calidad del producto final. Sin embargo, la actividad biotecnológica moderna plantea como característica esencial el fenómeno de manipulación genética ya que a raíz del descubrimiento de la estructura del ADN en la década de los 50 por Watson y Crick comienza a desarrollarse la biotecnología moderna tal como la entendemos ahora y que permite identificar los genes responsables de las características de los diferentes organismos vivos y de sus procesos celulares, permitiendo así seleccionar e incluso diseñar el ser vivo o molécula más indicada en función de la característica o proceso deseado.

Tras la necesidad de diferenciar ambos conceptos, la propia OCDE realizó una distinción refiriéndose a la biotecnología moderna como a aquel *“conjunto de técnicas en las que se obtienen o aplican organismos modificados genéticamente”*. El objetivo del enfoque ofrecido por la OCDE es diferenciar la biotecnología moderna de los usos tradicionales de la utilización de organismos vivos en los procesos de producción. Para ello emplea una definición, deliberadamente amplia, que abarca a toda la biotecnología moderna pero también incluye ciertas actividades tradicionales y otras de frontera (OCDE, 2005).

Esta tecnología aplicada en plantas permite la obtención de Organismos Modificados Genéticamente (OMGs) los cuales expresan la o las proteínas de interés codificadas por el gen insertado (Cubero, 2002; 2003). Y, la expresión por la planta de este nuevo gen (o transgen) puede derivar en múltiples aplicaciones de acuerdo con el fin con que haya sido diseñada la construcción génica (Rodríguez-Villanueva, 2000).

A diferencia de la aplicación de la biotecnología clásica o convencional -que depende de la variabilidad genética existente entre individuos de la misma especie, la aplicación de la

biotecnología moderna está suponiendo una gran revolución científica ya que permite explotar en su beneficio la variabilidad genética existente entre los seres vivos con el objetivo de obtener organismos modificados genéticamente claramente ventajosos desde el punto de vista alimentario, sanitario e industrial (Cubero, 1999).

Para entender en profundidad la esencia de la Agrobiotecnología no se puede continuar sin citar dos términos: OMG y organismo transgénico. Se puede definir un OMG como un organismo vivo (vegetal o animal) en el que el material genético (ADN) ha sido manipulado para conferirle una determinada característica o propiedad ventajosa que no posee de manera natural.

Esta definición engloba a los transgénicos, pero hay que tener en cuenta que no todos los OMGs son transgénicos, ya que con frecuencia la ingeniería genética se usa para introducir un gen que ha sido previamente aislado o modificado en la propia especie de partida. Además, aunque en este apartado nos estemos refiriendo a técnicas biotecnológicas modernas es necesario precisar que los cultivos obtenidos por técnicas de biotecnología convencional -como los procesos de hibridación natural- también se consideran en sentido estricto OMGs.

Por lo tanto, de forma generalizada y según el glosario de biotecnología de la FAO se entiende por OMGs, aquellos que se obtienen mediante la aplicación de la transgénesis o de una tecnología de recombinación del ADN por la que se incorpora un transgén en el genoma hospedante o se modifica un gen del hospedante con el fin de modificar su nivel de expresión.

Aunque se utilicen de forma indiscriminada los términos “OMG”, “organismo transgénico” y “organismo obtenido mediante ingeniería genética”, para los fines de la presente tesis se utilizan como sinónimos.

Estas modificaciones obtenidas por técnicas de biotecnología moderna aplicadas a diferentes especies vegetales, es lo que hoy en día conocemos como **Agrobiotecnología**. Debido a la generación de este término, en el presente trabajo de tesis doctoral nos referiremos a la “Agrobiotecnología” como a la aplicación concreta de las diferentes técnicas de biotecnología moderna para la transformación de especies vegetales de forma global.

2.3.1. Situación actual de los cultivos modificados genéticamente

Para exponer de una manera detallada la situación actual de los cultivos modificados genéticamente en el mundo, es imprescindible hacer referencia a los informes anuales publicados por Clive James fundador del ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications). Para la realización de este capítulo de la tesis, los datos aportados proceden del último informe publicado que recoge la situación de los cultivos transgénicos desde 1996 hasta 2009 (Clive James, 2010).

En la figura 2.5 se puede observar cómo en los últimos seis años se ha producido un incremento significativo del número de países que han decidido impulsar los cultivos biotecnológicos, pasando de 18 países en 2003 a 25 países en 2009. De este modo, se refleja el aumento del interés por los OMGs a nivel internacional, observando como punto de partida el año 1996 en el que únicamente 6 países decidieron proceder con el

cultivo de OMGs y llegando a nada menos que 25 países productores de cultivos biotecnológicos en el año 2009.

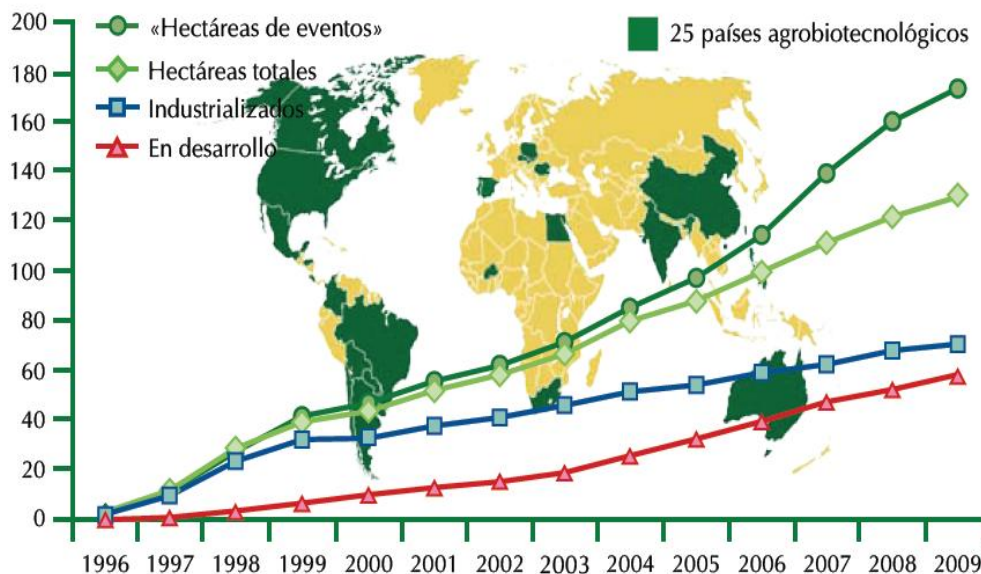


Figura 2.5 Superficie mundial de cultivos biotecnológicos de 1996 a 2009

Fuente: Clive James, 2010

Es necesario resaltar, que estos catorce primeros años de cultivos biotecnológicos han supuesto importantes beneficios económicos y medioambientales tanto para Países Desarrollados (PD) como para Países en Vías de Desarrollo (PVD), donde millones de agricultores pobres además han obtenido beneficios sociales y humanitarios que han contribuido a paliar su pobreza. Después de 14 años de comercialización, los cultivos genéticamente modificados continúan su ola de crecimiento gracias a la aceptación política y al reflejo de los beneficios que reportan este tipo de cultivos para agricultores, medio ambiente y consumidores a nivel mundial (Clive James, 2010).

Otro hecho significativo que refleja el informe ISAAA 2010 es que el área cultivada ha sufrido un aumento drástico durante el año 2009, suponiendo un crecimiento del 7% (9 millones de hectáreas) respecto al año 2008, por lo que de los 1.500 millones de hectáreas de tierra cultivable en el mundo, 134 millones de hectáreas han sido sembradas con cultivos biotecnológicos durante el año 2009 por lo que la cifra de hectáreas se ha multiplicado por 80 desde el año 1996. De este modo se aprecia claramente cómo los cultivos transgénicos se han convertido en la tecnología agrícola de más rápida adopción e implementación a nivel mundial.

En 2009, Brasil sobrepasó a Argentina como segundo mayor productor de cultivos transgénicos del mundo, con un llamativo aumento del 35 por ciento en comparación con 2008. Así, los ocho países principales, con más de 1 millón de hectáreas cultivadas, fueron: Estados Unidos con 64,0 millones de hectáreas, Brasil con 21,4 millones de hectáreas, Argentina con 21,3 millones de hectáreas, India con 8,4 millones de hectáreas, Canadá con 8,2 millones de hectáreas, China con 3,7 millones de hectáreas, Paraguay con 2,2 millones de hectáreas y Sudáfrica con 2,1 millones de hectáreas (figura 2.6).

El Informe de Situación Mundial de la comercialización de cultivos biotecnológicos/transgénicos refleja dos hitos importantes. En primer lugar, se destaca que en el año 2009, más de la mitad de la población mundial (el 54% o 3.600 millones de personas) vivían en los 25 países que cultivan 134 millones de hectáreas agrobiotecnológicas y que de los 25 países productores de cultivos biotecnológicos, 16 son países en vías de desarrollo (Costa Rica se incorporó en 2009) frente a 9 países industrializados (Alemania abandonó en 2008).

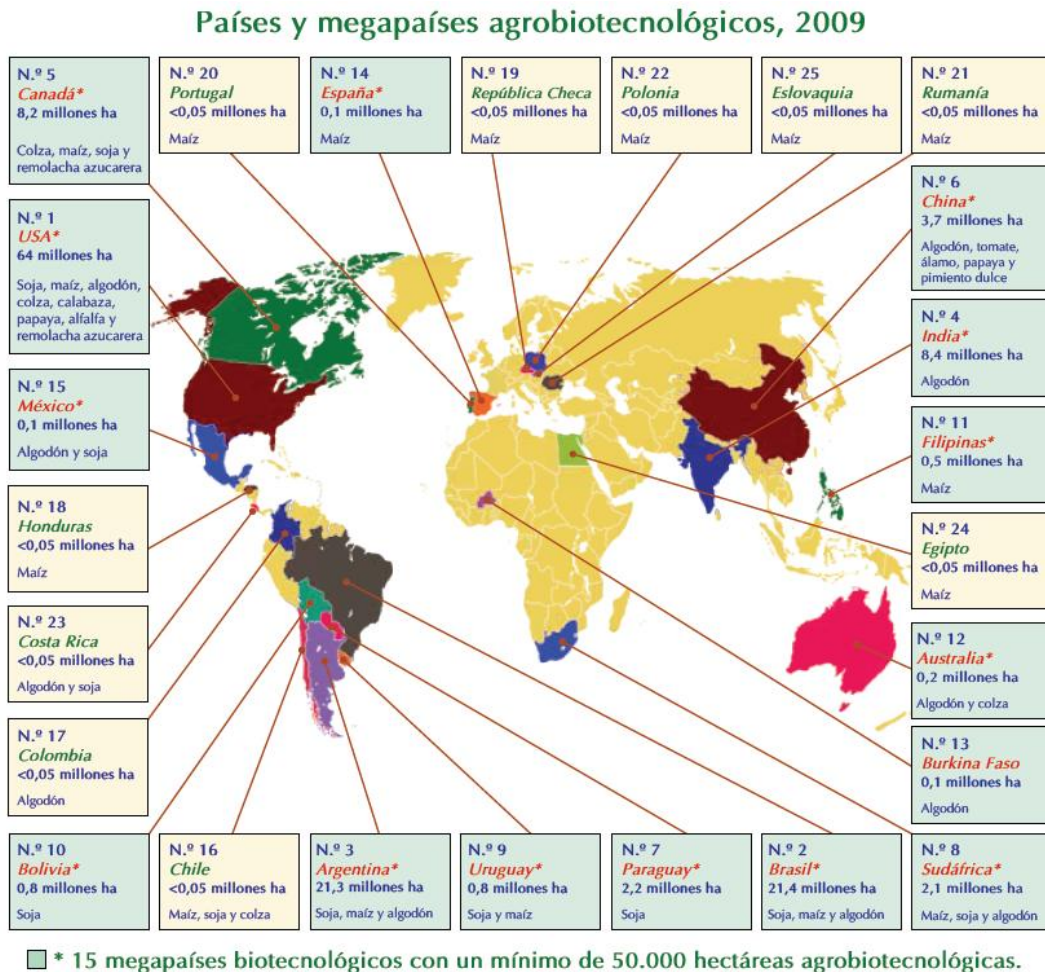


Figura 2.6 Países cultivadores de OMGs en 2009

Fuente: Clive James, 2010

Los cuatro grandes cultivos biotecnológicos registraron cifras récord de hectáreas por primera vez. El cultivo con mayor adopción a nivel global durante el año 2009, al igual que el año anterior, fue la soja genéticamente modificada que alcanzó el 52% de los 134 millones de hectáreas de cultivos agrobiotecnológicos sembrados en todo el mundo. Así, la soja biotecnológica ocupó más de tres cuartas partes de los 90 millones de hectáreas que se destinan a la producción de soja en todo el mundo, el algodón biotecnológico casi la mitad de los 33 millones de hectáreas dedicadas a su cultivo, el maíz biotecnológico más de una cuarta parte de los 158 millones de hectáreas globales existentes y la colza

biotecnológica más de una quinta parte de los 31 millones de hectáreas destinadas a su cultivo mundial.

Este elevado grado de utilización por parte de los agricultores es reflejo del buen rendimiento que han mantenido los cultivos biotecnológicos y los importantes beneficios económicos, medioambientales, sanitarios y sociales que ofrecen a pequeños y grandes agricultores de países industrializados y en vías de desarrollo. Se trata, por lo tanto, de un enorme voto de confianza soportado por millones de decisiones individuales de plantación de cultivos biotecnológicos, tomadas por agricultores de 25 países año tras año, a lo largo de un fructífero periodo de catorce años, basadas en la experiencia e información de primera mano adquiridas en sus propias cosechas.

El fuerte crecimiento registrado en todos los continentes en 2009 sienta las bases de una forma contundente para el crecimiento futuro de los cultivos biotecnológicos en todo el mundo. Hay que destacar que casi la mitad (el 46%) de la superficie global corresponde a los países en desarrollo, que se espera que releven del liderazgo a los países industrializados antes de 2015, año de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM), que la comunidad internacional se ha marcado con el compromiso de reducir el hambre y la pobreza a la mitad. Los cultivos biotecnológicos ya están contribuyendo a alcanzar este objetivo y su potencial de cara al futuro es enorme.

Además, de los 14 millones de agricultores beneficiarios, el 90% (13 millones) eran agricultores de pocos recursos. Estos agricultores ya se benefician de cultivos biotecnológicos como el algodón Bt, y de las posibilidades que les ofrece el arroz biotecnológico, que se comercializará a corto plazo.

Otro hito importante acontecido en 2009, ha sido el incremento del cultivo de algodón transgénico en la India, que ha supuesto una autentica revolución del país, con 5,6 millones de agricultores que han plantado 8,4 millones de hectáreas en 2009, equivalente a un récord de tasa de adopción del 87%. Gracias a este incremento, India ganó 1.800 millones de dólares gracias únicamente al cultivo de algodón transgénico en 2008 y redujo el uso de insecticidas a la mitad.

Los dos países africanos que se sumaron a la producción de transgénicos en 2008 -Egipto y Burkina Faso- aumentaron el cultivo en 2009 sustancialmente, respecto al año anterior. En este sentido, el área de algodón transgénico de Burkina Faso aumentó de 8.500 hectáreas a 115.000 hectáreas, es decir, de un 2% a un 29% del área de algodón total del país; y que se trata del mayor crecimiento registrado en un año. El progreso continuó también en Egipto registrando un 15% de aumento hasta un total de 1.000 hectáreas de maíz transgénico.

Este hecho supone un avance tecnológico que tendrá gran repercusión internacional, ya que África se considera en términos sociopolíticos la "última frontera" de los cultivos biotecnológicos, debido a que es el continente con mayor necesidad de agrobiotecnología y el que mayores beneficios podría obtener en un futuro muy próximo, dada la madurez que presenta dicha tecnología en la actualidad.

Cabe destacar que, por primera vez, Costa Rica ha cultivado OMGs en 2009, aunque exclusivamente para el mercado de exportación de semillas y, que Japón inició la comercialización de la rosa azul transgénica.

La remolacha azucarera RR® alcanzó en 2009 un impresionante índice de adopción del 95% en los Estados Unidos y en Canadá, en sólo su tercer año de comercialización, por lo que se trata del cultivo biotecnológico que más rápidamente se ha implantado en el mundo hasta la fecha.

En Europa, seis países plantaron 94.750 hectáreas de cultivos transgénicos en 2009, una reducción con respecto a los siete países y 107.719 hectáreas de 2008, ya que de forma sorprendente, Alemania suspendió los cultivos durante el año 2009. España, sin embargo, cultivó el 80% del maíz Bt comunitario y mantuvo el mismo índice de adopción que en 2008 (22%).

En 2009 se sustituyeron productos de primera generación por otros de segunda generación, incrementándose por primera vez el rendimiento *per se*. La soja RReady2Yield® -el primer ejemplo de una nueva clase de cultivos biotecnológicos objeto de estudio de muchos investigadores- fue cultivada por más de 15.000 agricultores en más de medio millón de hectáreas de Estados Unidos y Canadá en 2009.

Un aspecto que se ha mantenido durante el año 2009 es que la producción de los cultivos transgénicos de Estados Unidos fue obtenida con dos o tres genes apilados, que ofrecen varias ventajas combinadas. Los productos de genes apilados constituyen una importante especialidad y tendencia futura que satisface las necesidades de los agricultores y consumidores y teniendo en cuenta que en 2009 se cultivaron en once países: Estados Unidos, Canadá, Filipinas, Australia, México, Sudáfrica, Honduras, Chile, Colombia, Argentina y Costa Rica, representando el 21% de los cultivos biotecnológicos del mundo.

Centrándose en Europa, es destacable que en 2009, seis de los 27 países de la UE (uno menos respecto a 2008, puesto que Alemania ha abandonado en 2009) plantaron oficialmente maíz Bt con fines comerciales y la superficie total de estos siete países ha supuesto una disminución del 12% o 9.796 hectáreas con respecto a 2008. Esta disminución se asocia con varios factores, como la recesión económica, la disminución de la superficie plantada total de maíz híbrido y la falta de incentivos para algunos agricultores.

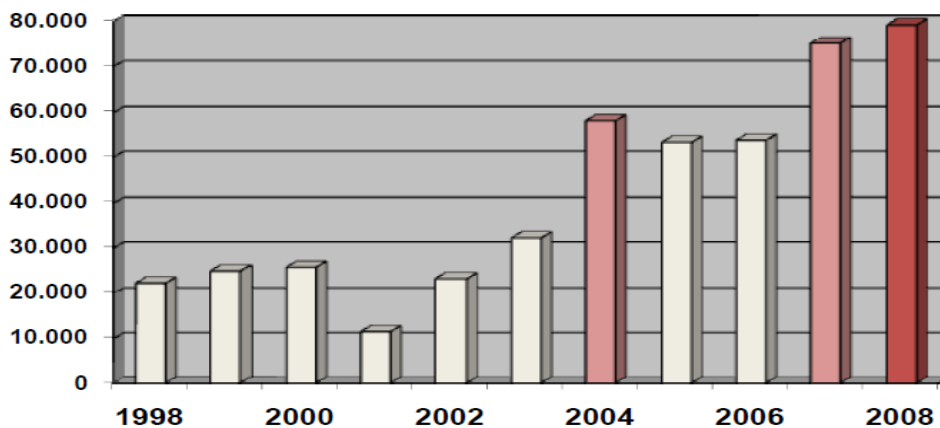


Figura 2.7 Hectáreas cultivadas de OMGs en España

Fuente: Fundación ANTAMA, 2009

Los seis países de la UE en los que aumentó el cultivo de maíz Bt en 2009, en orden decreciente de hectáreas de maíz Bt, fueron España, República Checa, Portugal, Rumania, Polonia y Eslovaquia. Como se observa en la figura 2.7, desde que se permitiera el cultivo de maíz Bt en 1998, España se ha situado a la cabeza europea en número de hectáreas cultivadas con maíz transgénico protegido contra plagas de taladro. Durante 2008 un total de 79.269 hectáreas fueron destinadas a cultivos modificados genéticamente, lo que supone un incremento de 4.121 hectáreas respecto al año anterior (MARM, 2009).

Otro de los avances más significativos acontecidos durante el año 2009, ha sido la adopción de la decisión del gobierno chino de emitir certificados de bioseguridad para el arroz transgénico resistente a los insectos y para el maíz con fitasa.

Teniendo en cuenta que el arroz es el cultivo alimenticio más importante del mundo, que proporciona alimento a media humanidad, y que el maíz es el pienso animal más importante del mundo, las autorizaciones de bioseguridad pueden tener enormes implicaciones para la futura adopción de cultivos transgénicos en todo el mundo. De acuerdo con estas autorizaciones, se establece que los cultivos deben completar un periodo de dos a tres años de ensayos de campo de registro estándar antes de su comercialización.

La autorización de bioseguridad de China del arroz resistente a los insectos es muy probable que estimule el desarrollo más rápido de arroz transgénico y de otros cultivos transgénicos en otros países en desarrollo. Adicionalmente según las predicciones de este último estudio, se espera que el maíz resistente a las sequías se difunda por los Estados Unidos en 2012 y en el África Subsahariano en 2017. Otro hito destacable es la consideración de que, tanto el arroz transgénico como el rasgo de tolerancia a las sequías, son los dos impulsores más importantes a nivel mundial para la futura adopción de cultivos modificados genéticamente.

Otros puntos clave que marcan el comienzo de la segunda ola de crecimiento en 2009 incluyen la aprobación de SmartStax®, un nuevo maíz transgénico que contiene ocho genes diferentes para la resistencia a insectos y herbicidas, y por último, la plantación en los Estados Unidos y Canadá de la soja RReady2Yield®: el primer producto de una nueva clase de tecnología que permite una inserción de genes más precisa y eficaz para impactar directamente en el rendimiento.

Según este informe, se espera la aprobación de cultivos más pequeños para 2015, como las patatas con resistencia a plagas y enfermedades, la caña de azúcar con rasgos de calidad y agronómicos y las bananas resistentes a las enfermedades. De modo que el número de agricultores de cultivos modificados genéticamente a nivel mundial alcance los 20 millones o más en 40 países y 200 millones de hectáreas en sólo cinco años más en 2015 (Clive James, 2010).

2.3.2. Aplicaciones de la Agrobiotecnología

La investigación para aumentar la producción agrícola y mejorar calidad nutritiva de los productos vegetales ha estado limitada a las herramientas disponibles. La aplicación de la tecnología de ADN recombinante a la agricultura está suponiendo en nuestros días una revolución en las prácticas agrícolas tradicionales. Los adelantos en la mejora genética están ayudando a conseguir nuevas variedades vegetales especialmente mejoradas en cuanto a su valor nutritivo o contenido en compuestos bioactivos se refiere (García Olmedo, 2003).

Las primeras aplicaciones con éxito de la biotecnología se referían a manipulación de caracteres monogénicos que suponían la mejora de características agronómicas difícilmente apreciables por el consumidor final, sin embargo, en la actualidad la práctica está cambiando a la aplicación de la biotecnología a sistemas complejos de expresión de manera que el resultado sea apreciable por el consumidor final, desde el punto de vista nutricional o desde el punto de vista farmacológico. La mejora de los productos vegetales es especialmente importante en países en vías de desarrollo dónde la desnutrición, la deficiencia en determinados nutrientes y la limitada accesibilidad a tratamientos farmacológicos son prevalecientes.

Más adelante aparece lo que comúnmente se denomina la segunda generación de plantas transgénicas que son fundamentalmente aquellas que presentan mejoras en cuanto a propiedades organolépticas y nutricionales se refiere. Las modificaciones que se realizan en estas plantas son mucho más complejas y están implicados un mayor número de genes que en las plantas transgénicas de primera generación.

Dado que la mejora de la calidad nutritiva de los productos agrícolas ha sido desde la antigüedad uno de los objetivos de la mejora vegetal, la ingeniería genética ofrece múltiples oportunidades de incidir sobre estos aspectos (SEBIOT, 2000).

Actualmente se ha acuñado el término “compuestos bioactivos” para referirse a compuestos de origen vegetal con acción beneficiosa para la salud. De esta forma se engloba a aquellos nutrientes o no-nutrientes capaces de actuar sobre los mecanismos fisiológicos del cuerpo humano, entre los que se encuentran vitaminas, elementos traza, fibra alimentaria y otros compuestos activos, como son las proteínas recombinantes útiles para aplicaciones farmacológicas.

Dichos compuestos pueden tener un mecanismo de acción complementario y/o superpuesto, y entre dichos mecanismos se incluyen, entre otros, la modulación de enzimas detoxificantes, estimulación del sistema inmune, reducción de la agregación plaquetaria, modulación de la síntesis de colesterol y del metabolismo hormonal, reducción de la presión sanguínea, efectos antioxidantes, antibacterianos y antivirales (Sala *et al.*, 2003).

Existe una tercera generación de plantas transgénicas que corresponde a plantas que generan compuestos con un alto valor añadido, en el campo biosanitario, alimenticio, farmacéutico e industrial.

De forma resumida, las tres generaciones de plantas transgénicas han desempeñado un papel fundamental en la consecución de los siguientes hitos (Cámara, 2006a):

Plantas transgénicas de Primera Generación

Hito: Mejora de las características agronómicas:

- Resistencia a estrés biótico (resistencia a plagas y enfermedades).
- Plantas capaces de crecer en suelos salinos.
- Plantas que resisten a condiciones muy severas de frío o de sequía.
- Plantas que crezcan en suelos contaminados permitiendo su recuperación.

Plantas transgénicas de Segunda Generación

Hito: Aumento del valor nutritivo:

- Cambio en la composición en aminoácidos: aumento del contenido de lisina en semillas de soja y enriquecimiento en patatas.
- Cambio en la composición en ácidos grasos: plantas transgénicas de colza con altos niveles de ácido oleico y aumento del contenido de ácido esteárico en semillas de colza.

-
- Aumento en el contenido de micronutrientes (vitaminas y minerales): arroz dorado (“Golden rice”) que contiene provitamina A, aumento de vitamina E en semillas oleaginosas, arroz con cantidades superiores de ferritina, proteína reguladora del metabolismo del hierro y patatas enriquecidas con lactoferrina.
 - Eliminación de factores anti-nutricionales: inhibidores de tripsina presentes en leguminosas.

Plantas transgénicas de Tercera Generación

Hito: Obtención de compuestos bioactivos de interés:

- Plantas usadas como biorreactores para la producción de sustancias de uso médico, alimenticio o industrial.
- Plantas productoras de proteínas humanizadas.
- Plantas productoras de vacunas y anticuerpos.

La resistencia a enfermedades, reducción del uso de pesticidas, alimentos más nutritivos y mejoras en el sabor y la calidad, son algunos de los beneficios que, desde hace tiempo, ha proporcionado la Agrobiotecnología. Sin embargo ahora, la lista de beneficios de la biotecnología molecular va ampliándose y, en respuesta a un ámbito de investigación en constante evolución, no sólo crea plantas resistentes a insectos y plagas, sino que proporciona herramientas para el desarrollo de microorganismos que producen compuestos químicos, antibióticos, aminoácidos, enzimas, anticuerpos, antígenos y determinados aditivos alimentarios y proteínas de interés terapéutico.

En este sentido, la explotación de los recursos vivos abre nuevas perspectivas, especialmente en los EEUU y Canadá que encabezan la lista de países productores de sustancias terapéuticas a partir de vegetales, siendo especialmente importante en los EEUU donde en los últimos 35 años se ha producido un crecimiento continuo y regular.

La Agrobiotecnología, tal y como la planteamos, se utiliza actualmente en tres grandes áreas: en la mejora y control de los procesos de obtención y producción, en la mejora de la higiene de los productos y en el uso de plantas como factorías de nuevos compuestos beneficiosos para la salud.

En relación con la mejora de los procesos de obtención, la biotecnología permite identificar aquellas variedades vegetales con mayor productividad, más resistentes a enfermedades o con mejores propiedades organolépticas, este hecho permite controlar los procesos de producción de los vegetales obteniendo variedades con mejoras en sus características agronómicas.

En cuanto a la mejora de la higiene y seguridad alimentarias, la tecnología clásica de análisis de patógenos en alimentos tarda varios días en proporcionar los resultados de los análisis. La biotecnología permite realizar estos mismos análisis en horas, e incluso existen kits de diagnóstico que pueden ser utilizados in situ en la fábrica. Estas mismas técnicas permiten al fabricante de transformados alimentarios vegetales identificar una posible presencia de OMGs y comprobar el origen de las materias primas empleadas así como obtener nuevas herramientas de diagnóstico.

Finalmente, si nos fijamos en las plantas como biofactorías, es evidente que los seres vivos producen naturalmente miles de moléculas para combatir las infecciones y enfermedades

(Miele, 1997). La biotecnología se utiliza para identificar estas moléculas, las enfermedades que combaten y fabricarlas a escala industrial. Este tipo de estrategia ya se utiliza para luchar contra la anemia, la fibrosis quística o la deficiencia de hormona de crecimiento, entre otras (Yoshida y Shinmyo, 2000).

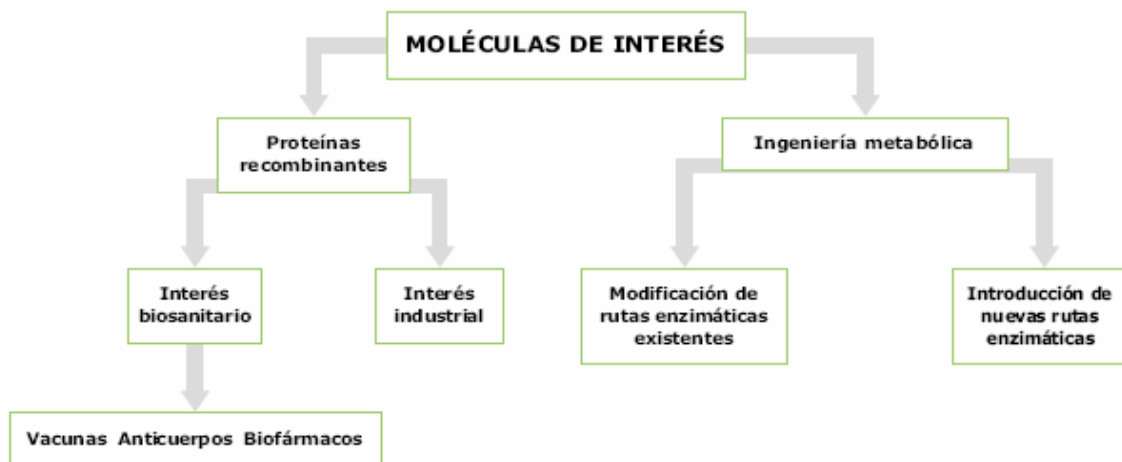


Figura 2.8 Moléculas de interés utilizando plantas como biofactorías

Fuente: Genoma España / CLAA-PCM, 2005

Tal y como se aprecia en la figura 2.8, en el caso concreto de la aplicación de la Agrobiotecnología en relación con salud humana destacan tres aspectos fundamentalmente: la producción de anticuerpos y sus receptores a partir de plantas modificadas genéticamente, la producción de antígenos que permiten el desarrollo de vacunas comestibles a partir de plantas modificadas genéticamente y la obtención de otros compuestos biofarmacéuticos: “Biofármacos”.

Sin embargo, en lo que se refiere a Agrobiotecnología, quedan muchos aspectos por conocer, como son el número y efecto todos y cada uno de los genes implicados en la expresión de un carácter, la localización de estos, y su función fisiológica.

Por esta razón, la aplicación de la biotecnología para mejorar el valor nutritivo de los alimentos de origen vegetal o para la obtención de compuestos activos de uso farmacológico tiene tanto trabajo por hacer pero con un futuro muy prometedor (Cebadera y Cámara 2005a).

3. MARCO JURÍDICO

Desde finales de los años sesenta, la sociedad mundial está viviendo una apasionante aventura vinculada a la palabra “biotecnología”, cuyo despegue ha dado lugar al desarrollo numerosos aspectos vinculados al Derecho.

En los últimos tiempos hemos tenido una avalancha constante de normativas y convenios internacionales en torno a las diferentes connotaciones y aplicaciones de la biotecnología, entendida como una herramienta multidisciplinar aplicable a numerosos sectores, entre los que sin duda destaca el sector agrobiotecnológico, tanto por su madurez tecnológica como por su diversificación regulatoria.

Aunque desde hace unos años el Derecho se viene ocupando de multitud de aspectos implicados fundamentalmente en la producción y consumo de los alimentos, la atención prestada a los alimentos obtenidos mediante Agrobiotecnología ha aumentado significativamente en las últimas décadas, entre otras cosas como consecuencia del fuerte debate social que se ha generado entorno a la conservación del medio ambiente, los OMGs y la seguridad de los alimentos (Alcalde, 2009).

Sin embargo, aunque un escenario ideal sería aquel en el que el Derecho asumiera un papel arbitral entre los avances tecnológicos que dan lugar a los diferentes hitos agrobiotecnológicos y el control de los posibles riesgos derivados del uso de los mismos en la salud humana, animal o vegetal y el medio ambiente; la realidad es muy diferente. Por ello, en las últimas décadas se ha generado una compleja red de normativas nacionales, comunitarias e internacionales con diferentes y controvertidos enfoques.

Este capítulo de la tesis se centra en un análisis de la normativa de ámbito europeo, haciendo mención también a las diferentes normas nacionales incorporadas en el

ordenamiento jurídico español que regulan la Agrobiotecnología en nuestro país. En este capítulo se hace una mera reseña a aquellas normas internacionales constituidas por Tratados, Acuerdos o Convenios internacionales que, por su envergadura, es necesario citar para tener una visión completa y global sobre el marco jurídico relativo a la Agrobiotecnología.

Analizando la situación jurídica comunitaria, se observa que Europa no cuenta con una única política de gestión en materia de Agrobiotecnología, sino con un entramado de reglamentos específicos, en el que se entrecruzan muchas políticas horizontales y sectoriales a nivel internacional, comunitario, nacional y local. A fin de que Europa, a pesar del elevado número de agentes y políticas, pueda gestionar con éxito la biotecnología y las ciencias de la vida y recoger los beneficios de las mismas para la sociedad, los mecanismos de acción deben basarse en una visión conjunta del enfoque cooperativo, con mecanismos de aplicación eficaces que compensen la falta de una responsabilidad y un control únicos. Sin estos mecanismos, la biotecnología y las ciencias de la vida seguirán siendo objeto de polémica y produciendo soluciones locales y de escaso alcance (Monsalve, 2004).

Con objeto de mejorar la coherencia, transparencia y eficacia de la normativa comunitaria, la Comisión Europea ha sugerido que las actividades reglamentarias de la Comunidad respeten los siguientes principios (Comisión Europea, 2002a):

Gestión del riesgo y autorización de los productos: de conformidad con los principios y marcos reglamentarios existentes, los productos de la biotecnología se deben autorizar si, sobre la base de una evaluación exhaustiva del riesgo, se consideran seguros para el medio ambiente y la salud de las personas, animales y las plantas. En el caso de que las pruebas científicas sean insuficientes, inconcluyentes o inciertas, y si los posibles riesgos se

consideran inaceptables, las medidas de gestión de riesgos deben basarse en el principio de precaución. La gestión de riesgos debe tener en cuenta los resultados de la evaluación de los riesgos y otros factores relevantes para el tema de que se trate, con objeto de lograr el nivel de protección deseado. Los procedimientos de autorización deben ser transparentes y la evaluación de los riesgos debe publicarse y someterse a debate público como parte de los procedimientos de autorización. La comunicación debe ser una parte integrante de las actividades de evaluación y gestión de los riesgos.

Garantías del mercado interior: para asegurar el funcionamiento del mercado interior y la seguridad jurídica, la legislación comunitaria debe elaborarse y revisarse periódicamente a fin de asegurar su coherencia y eficacia, incluida su viabilidad y fuerza ejecutoria prácticas. Debe llevarse a cabo una minuciosa supervisión de la aplicación y el cumplimiento de la legislación comunitaria, y cualquier problema relacionado con este último debe abordarse y resolverse entre las partes interesadas de acuerdo con procedimientos existentes y de forma transparente y predecible.

Proporcionalidad y elección de los consumidores: los requisitos reglamentarios de la Comunidad deben ser proporcionales al grado de riesgo determinado y conformes con las obligaciones internacionales de la Comunidad. Como propone la Comisión, la legislación comunitaria debe facilitar la elección de los consumidores, asegurándose de que se informa a los consumidores y otros usuarios en el caso de que los alimentos, piensos, o semillas estén modificados genéticamente o contengan OMGs.

Previsibilidad, modernización y evaluación del impacto: la Comisión debe publicar regularmente un programa de trabajo evolutivo en el ámbito reglamentario a fin de mejorar la previsibilidad, la transparencia y la calidad de la reglamentación, que debe seguir

revisándose y actualizándose con regularidad para adaptarla al progreso científico y tecnológico, evaluar sus repercusiones y adaptarla a los principios actuales.

Las características de los distintos instrumentos jurídicos de la UE son los siguientes (Comisión Europea, 2002b):

- i. El **Reglamento** tendrá un alcance general. Será obligatorio en todos sus elementos y directamente aplicable en cada estado miembro.
- ii. La **Directiva** obligará al Estado miembro destinatario en cuanto al resultado que deba conseguirse, dejando, sin embargo, a las autoridades nacionales la elección de la forma y de los medios. Para su efectividad en un país miembro, debe ser incorporado su contenido a una norma nacional.
- iii. La **Decisión** será obligatoria en todos sus elementos para todos sus destinatarios.
- iv. Las **Recomendaciones** y los **Dictámenes** no serán vinculantes.

En el campo de la biotecnología, y más concretamente en la Agrobiotecnología, la legislación comunitaria tiene en principio base científica y su aplicación respecto a decisiones específicas tendrá lugar en el marco del principio de precaución (Comisión Europea, 2001):

De forma general, el marco regulatorio europeo actual relativo a la Agrobiotecnología engloba distintas áreas de diversa índole entre las que destacan la obtención de alimentos modificados genéticamente, las patentes relativas a invenciones biotecnológicas, el uso confinado de microorganismos modificados genéticamente y la liberación y

comercialización de productos que contienen OMGs, incluidos los productos alimenticios, los piensos y las semillas.

Uno de los principios básicos que caracteriza la reglamentación comunitaria en Agrobiotecnología se centra en impedir las barreras comerciales, es decir, se procura que los nuevos productos puedan circular libremente en el Mercado Único Europeo y asegura que los procesos se puedan aplicar de manera uniforme en los distintos Estados miembros (Rodríguez *et al.*, 2001).

Sin duda, los responsables y protagonistas de dicha reglamentación, son las Autoridades europeas encargadas de reglamentar las diferentes normas comunitarias que regulan desde un punto de vista jurídico el progreso tecnológico en materia agrobiotecnológica. A este nivel, las Autoridades responsables de legislar y regular son los miembros del sistema institucional de la Unión Europea, que se compone de cinco Instituciones (Comisión Europea, 2002b):

La Comisión Europea: Denominada Comisión de las Comunidades Europeas hasta la entrada en vigor del Tratado de Niza, es el cuerpo legislativo responsable de proponer la legislación, la aplicación de las decisiones, la defensa de los tratados de la Unión y, en general, se encarga del día a día de la Unión Europea. Está compuesta por veintisiete comisarios elegidos por los gobiernos de los Estados miembros de “mutuo acuerdo”. Esta Comisión juega un papel único, ya que puede iniciar el proceso legislativo. Sus funciones son entre otras presentar propuestas para continuar el desarrollo del Derecho Comunitario (“derecho de iniciativa”), controlando su cumplimiento y correcta aplicación, así como administrar y ejecutar las normativas comunitarias.

Consejo de la Unión Europea: Fue formalmente reconocido por el Acta Única Europea de 1986. Es la única Institución Comunitaria en la que están presentes los intereses de los Estados miembros. Está compuesta por un representante del Gobierno de cada Estado miembro, de rango ministerial. Sus principales funciones son la actividad normativa, coordinación de la política económica, elaboración sobre la base de un anteproyecto de la Comisión, el proyecto de presupuesto, y designación de los miembros del Tribunal de Cuentas, del Comité Económico y Social, y del Comité de las Regiones. Finalmente es el órgano competente para las Relaciones exteriores. Cada año el Consejo "concluye" (es decir, firma oficialmente) varios acuerdos entre la Unión y otros países, así como con organizaciones internacionales. Estos acuerdos pueden cubrir áreas amplias tales como el comercio, la cooperación y el desarrollo, o pueden tratar temas específicos como los textiles, la pesca, la ciencia y la tecnología, el transporte, etc.

Parlamento Europeo: Denominado coloquialmente Eurocámara o Europarlamento, es considerado la "primera institución" de la Unión Europea, es decir, es mencionado en primer lugar en los tratados y tiene un precedente protocolario sobre todas las demás autoridades a nivel europeo. Junto con el Consejo de la Unión Europea, el Parlamento Europeo forma parte de la rama bicameral legislativa de las instituciones de la Unión Europea. El Parlamento Europeo tiene fundamentalmente tres tareas: examinar y adoptar la legislación europea, aprobar el presupuesto de la UE y efectuar un control democrático de las otras instituciones, sobre todo la Comisión Europea. Además, el Parlamento tiene que dar el visto bueno a acuerdos internacionales importantes tales como la adhesión de nuevos Estados miembros de la UE o acuerdos de asociación y comercio entre la UE y otros países.

Tribunal de Justicia de las Comunidades Europeas (TJCE): Se creó por el Tratado de Roma para realizar la supervisión judicial de los tratados y leyes comunitarias. Es la

Institución de la Unión Europea que cumple la función de órgano de control del Derecho comunitario europeo, y que se caracteriza por su naturaleza judicial y supranacional. Las sentencias del TJCE tienen carácter vinculante en los Estados miembros ya que el TJCE es el garante de un ordenamiento jurídico propio que se ve asistido y aplicado también por los sistemas jurídicos nacionales.

Tribunal de Cuentas: Fue creado en 1975 por el Tratado de Bruselas y comenzó su trabajo en 1977. El Tratado de la Unión Europea de 1992 lo elevó al rango de institución de pleno derecho. El Tribunal de Cuentas Europeo tiene el compromiso de ser una organización eficiente a la vanguardia de los progresos en el campo de la auditoría pública y de la administración, una institución reconocida por su integridad e imparcialidad, por su profesionalidad y eficiencia, y por la calidad de sus auditorías y dictámenes. Sus miembros serán elegidos entre personalidades que pertenezcan o hayan pertenecido en sus respectivos países a las instituciones de control externo o que estén especialmente calificadas para esta función. Su función es la fiscalización, o control de cuentas de la Comunidad o de cualquier organismo creado por ésta.

En lo referente a temas biotecnológicos, Emilio Muñoz (Muñoz, 2003a) siempre ha destacado el papel que ha desempeñado la Comisión Europea, tanto en lo que concierne a las iniciativas de control como en lo que se refiere a las políticas de fomento de la biotecnología, por ejemplo, en el diseño de una estrategia encaminada a incrementar el papel de Europa en el desarrollo de la biotecnología con mayor participación de los agentes sociales. En el caso del desarrollo de las normas que regulan la Agrobiotecnología, la Comisión Europea también es la institución comunitaria protagonista en lo que se refiere a la propuesta, al control del cumplimiento y a la correcta aplicación, de las distintas normativas comunitarias que se están en vigor en los últimos años.

Entre los distintos organismos específicos que regulan o asesoran a los órganos legislativos en materia agrobiotecnológica, hay algunos que han jugado un papel importante en el avance tanto legislativo como científico del desarrollo y puesta en práctica de la Agrobiotecnología, como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), entre otros.

A continuación se van a desarrollar los aspectos regulatorios relativos a la Agrobiotecnología que, desde un punto de vista teórico para el objeto de la presente tesis, se pueden agrupar de la siguiente forma:

- Aspectos regulatorios de los OMGs,
- Aspectos regulatorios de los nuevos alimentos,
- Aspectos regulatorios sobre la protección jurídica de la propiedad industrial de la Agrobiotecnología.

3.1. ASPECTOS REGULATORIOS DE LOS OMGs

En lo referente al desarrollo del marco regulatorio entorno a la Agrobiotecnología hay muchas aproximaciones regulatorias. El objetivo inicial se centró en la regulación de los aspectos vinculados a medidas de bioseguridad, prevención, eliminación o disminución de los riesgos asociados a los OMGs, en la medida en que éstos pudieran afectar a la vida y la salud humana y animal o al medio ambiente. Esta orientación inicial obedeció a un exceso de la influencia de los actores sociales contrarios al desarrollo de la biotecnología frente a los intereses de los productores de alimentos y de la industria agrobiotecnológica.

En este sentido, cuando revisamos cronológicamente el proceso legislativo relativo a la Agrobiotecnología, observamos que se remonta al año 1986, cuando la Comisión Europea, en la comunicación **COM (86)573 final** denominada “*Un marco comunitario para la regulación biotecnológica*”, manifestó su intención de formular propuestas para la reglamentación comunitaria de la biotecnología que abordara los niveles de confinamiento físico y biológico, control de accidentes y manejo de desechos en aplicaciones industriales y la autorización de la liberación planeada en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente (Comisión Europea, 1986).

Dos años más tarde se iniciaron varias propuestas de directivas comunitarias basándose en los principios establecidos en el **informe de la OCDE de 1986** titulado “*Consideraciones de seguridad relativas al ADN recombinado*”, pero debido a las discusiones y críticas recibidas por las organizaciones ecologistas hubo un retraso de más de dos años en el marco comunitario de la regulación de la biotecnología (Monsalve, 2004).

Posteriormente se elaboró la **Directiva 90/219/CEE** del Consejo de 23 de abril de 1990, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente, que abarcaba varios aspectos íntimamente vinculados a prácticas agrobiotecnológicas.

Esta Directiva, ha sufrido numerosas modificaciones. La primera fue por parte de la Comisión, a través de la **Directiva 94/51/CE** de 7 de noviembre, por la que se adapta al progreso técnico la Directiva anterior, modificando su anexo II. La segunda modificación fue por medio de la **Directiva 98/81/CE** del Consejo de fecha 26 de octubre, que afectó a los artículos del 2 al 16 y el 18, 19 y 20.

En el año 1993 se publicó la **Decisión 93/626/CEE** de 25 de octubre, que recoge las ideas surgidas en la celebración del **Convenio sobre la Diversidad Biológica**, en donde por primera vez aparece una definición bastante acertada de la biotecnología moderna: *“por «biotecnología» se entiende toda aplicación tecnológica que utilice sistemas biológicos y organismos vivos o sus derivados para la creación o modificación de productos o procesos para usos específicos”*. Esta definición estableció un antes y un después desde un punto de vista semántico, abriendo la puerta a las diferentes especializaciones tecnológicas, entre las que destaca sin duda la Agrobiotecnología.

Uno de los hechos que más repercusión tendría en la implantación de la biotecnología en todos sus campos de actuación, fue la **“moratoria de facto”**, aplicada por varios países, que con sus votos negativos o abstenciones, no permitían la autorización de nuevos cultivos modificados genéticamente. Su levantamiento estaba condicionado a la elaboración de nuevas leyes más restrictivas en cuanto al etiquetado y trazabilidad de estos alimentos OMGs (Monsalve, 2004).

En ese mismo año también se publicó la **Directiva 98/95/CE**, de 14 de diciembre, que compila y modifica diversas directivas relativas a la comercialización de plantas modificadas genéticamente y de los recursos fitogenéticos y se incorporó a la legislación española dos años después por el **Real Decreto 323/2000**.

Posteriormente, en el año 2000, entró en escena uno de los acuerdos más importantes en biotecnología, el comúnmente denominado Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad, que aunque es un instrumento internacional, tiene una amplia repercusión europea. El nombre completo de este acuerdo es **Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio de Diversidad Biológica**. Cartagena es el nombre de la ciudad colombiana donde en febrero de 1999 el Protocolo fue programado para ser concluido y adoptado por los diferentes países posteriormente. En Mayo del año 2000 España manifestó su acuerdo y aceptación, antes de que la Unión Europea lo ratificara el 25 de junio de 2002. Este protocolo entró finalmente en vigor el 11 de septiembre de 2003, tras haberlo ratificado los 50 países que se requerían como mínimo.

El Protocolo de Cartagena de Bioseguridad tiene como principal objetivo garantizar que el movimiento transfronterizo de **organismos vivos modificados genéticamente** (OVM) se realice en condiciones seguras para la conservación de la biodiversidad y la salud humana, quedando excluidos los productos farmacéuticos destinados a los seres vivos, ya que éstos vienen regulados por la OMS. La introducción del término OVM se debió a que se pretendía evitar la referencia a la modificación genética, entendiendo como OVM “*cualquier organismo vivo que posea una nueva combinación de material genético obtenida mediante la aplicación de biotecnología moderna*”; es decir, cualquier entidad biológica capaz de transferir o replicar material genético, modificada genéticamente. Por lo tanto, este Protocolo no afecta a los productos transformados.

El Protocolo de Cartagena contempla temas de gran importancia, entre ellos:

- El principio de precaución, según el cual, con el fin de proteger el medio ambiente, los Estados deberán aplicar ampliamente el criterio de precaución conforme a sus capacidades. Cuando haya peligro de un daño grave e irreversible, la falta de certeza científica absoluta no deberá utilizarse como razón para postergar la adopción de medidas eficaces en función de los costes para impedir la degradación del medio ambiente.
- El procedimiento para la importación de los OVMs.
- La identificación de los productos que los contienen.
- Las relaciones entre los intereses ambientales y económicos.

Entre los elementos más importantes destaca la relevancia de la información contenida en la notificación que el país exportador entrega al importador, relativa al movimiento transfronterizo. Ha de ser de aplicación antes del primer movimiento transfronterizo intencional de un OVM destinado a la introducción deliberada en el medio ambiente, destacando la importancia de la evaluación del riesgo sobre las posibles consecuencias para la parte importadora y exige la existencia de un sistema regulatorio en cada país para asegurar la concesión del acuerdo fundamental previo.

El artículo 18 del Protocolo establece la obligación de las partes de tomar las medidas necesarias para que se identifiquen los OVMs de forma diferente según el destino de los mismos.

De esta forma se establecen tres tipos de OVMs, con diferentes requerimientos de etiquetado para cada uno de ellos:

- a. Organismos vivos modificados destinados a uso directo como alimento humano o animal, o para procesamiento, identificados claramente con la reseña "*pueden llegar a contener*" organismos vivos modificados y que no están destinados para su introducción intencional en el medio.
- b. Organismos vivos modificados destinados para uso confinado identificados claramente como organismos vivos modificados, y
- c. Organismos vivos modificados destinados a su introducción intencional en el medio ambiente.

En el mismo año de este Protocolo, se publicó la **Directiva 2000/29/CE**, de fecha 8 de mayo, relativa a las medidas de protección contra la introducción en la Comunidad de organismos nocivos para los vegetales o productos vegetales y contra su propagación en el interior de la Comunidad.

En ese mismo año también se publicó la **Decisión 2000/608/CE**, de fecha 27 de septiembre de 2000, mediante la cual se realizaron rectificaciones a esta Directiva anteriormente mencionada 90/219/CEE en lo referente a las notas de orientación para la evaluación del riesgo descrita en el anexo III de la Directiva 90/219/CEE. En el año 2001, la Decisión 2001/204/CE, de 8 de marzo, completó la Directiva 90/219/CEE, con respecto a los criterios por los que se establece la inocuidad de los microorganismos modificados genéticamente tanto para la salud humana como para el medio ambiente.

En el año 2001, se publicó la **Directiva 2001/18/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo, que estableció que el etiquetado de alimentos OMGs deberá indicar claramente la presencia de organismos modificados genéticamente. Además, estableció que en la etiqueta o en la documentación adjunta deberá figurar la frase *“Este producto contiene organismos modificados genéticamente”*.

Existen numerosas decisiones que aportan datos complementarios a la Directiva 2001/18/CE de las que, las más influyentes, son la **Decisión 2002/811/CE** del Consejo, de 3 de octubre, por la que se establecen unas notas de orientación complementarias al anexo VII (concerniente al plan de seguimiento), que manifiesta que la notificación tiene que contener un expediente técnico informativo que incluya una evaluación completa de riesgos para el medio ambiente, para identificar y evaluar, **caso por caso**, los efectos adversos potenciales, así como la **Decisión 2002/812/CE** del Consejo, de 3 de octubre, por la que se establece el modelo de resumen de la notificación de la puesta en el mercado de organismos modificados genéticamente como producto o componente de productos, determinándose un modelo de resumen de la notificación de la liberación de productos que contienen plantas superiores modificadas genéticamente (PSMG) como para organismos modificados genéticamente o productos distintos de las plantas superiores.

Posteriormente, mediante la **Decisión 2002/813/CE**, de 3 de octubre, se estableció el modelo de resumen de la notificación de la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente para fines distintos de su puesta en el mercado. Y la **Decisión 2003/701/CE**, de 29 de septiembre, por la que se publicó un modelo para la presentación de los resultados de la liberación intencional en el medio ambiente de plantas superiores modificadas genéticamente con una finalidad distinta de la de su comercialización.

Un año más tarde, en 2003, se publican dos Reglamentos comunitarios, ambos el 22 de septiembre. El primero es el **Reglamento 1829/2003/CE** sobre alimentos y piensos modificados genéticamente, en el que se recogen por primera vez una serie de requisitos para la autorización de un alimento cuyo alcance se extiende a no tener efectos negativos sobre la salud humana, la sanidad animal o el medio ambiente, el no inducir a error al consumidor y el no diferenciarse de los alimentos que están destinados a sustituir de tal manera que su consumo normal resulte desventajoso, desde el punto de vista nutricional, para los consumidores. El segundo es el **Reglamento 1830/2003/CE**, que amplía el concepto de alimento con organismo modificado genéticamente a todo tipo de alimento que contenga o haya sido producido a partir de éstos, incluidas las fracciones derivadas de los mismos aunque sean idénticas a las convencionales, además, incluye a los piensos, que antes no tenían una legislación específica.

En este mismo año, se adopta en España la **Ley 9/2003**, a través de la cual se incorpora al ordenamiento jurídico español la Directiva 2001/18/CE, y en la que se establece el régimen de la utilización confinada, liberación voluntaria (ensayos de campo) y comercialización de organismos modificados genéticamente, adoptándose en 2004 el Real Decreto 178/2004, que desarrolla dicha ley y se ocupa de las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión y que traspone el Reglamento 1829/2003/CE en el proceso de autorización de ensayos y comercialización de los organismos modificados genéticamente.

Según la Ley 9/2003, la utilización confinada es cualquier actividad por la que se modifique el material genético de un organismo o por la que éste, así modificado, se cultive, almacene, emplee, transporte, destruya o elimine, siempre que en la realización de tales actividades se utilicen medidas de confinamiento, con el fin de limitar su contacto con la población y el medio ambiente. Las actividades de utilización confinada se clasifican, en función de la evaluación de riesgos para la salud humana y el medio

ambiente, en actividades de riesgo nulo o insignificante, de bajo riesgo, de riesgo moderado y de alto riesgo. A cada una de estas actividades se les aplica un grado de confinamiento suficiente para proteger la salud humana y el medio ambiente.

Esta Ley viene desarrollada por el **Real Decreto 178/2004**, de 30 de enero, que además incorpora las Directivas europeas al respecto, junto con las Decisiones que complementan el contenido de dichas Directivas. La efectiva aplicación de la citada Ley implica desarrollar reglamentariamente diversos aspectos de su articulado relacionados con la estructura, composición y funciones del Consejo Interministerial de OMGs y de la Comisión Nacional de Bioseguridad. Este Real Decreto hace alusión al proceso de liberación voluntaria por el cual se establecen los procedimientos diferenciados para liberaciones en ecosistemas específicos y procedimientos simplificados para autorizar la liberación de varios OMGs en una solicitud única.

Mediante este Real Decreto se crea un **Registro Central de OMGs** cuya gestión corresponde a la Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental del Ministerio de Medio Ambiente, donde se enviarán todos los datos y las solicitudes de autorización de utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de OMGs. Asimismo, el Registro recibirá información de la Comisión Europea y de los demás Estados miembros.

El Real Decreto evalúa y clasifica las actividades en cuatro tipos, en función de su nivel de riesgo para la salud humana y el medio ambiente, establece requisitos para la realización de dichas actividades (principios, medidas de confinamiento y otras medidas de protección), resuelve y notifica las autorizaciones y elabora planes de emergencia junto con la información y actuaciones en caso de accidente.

El 14 de enero de 2004, entró en vigor el **Reglamento 65/2004/CE**, que modificó la Directiva 2001/18/CE y por el que se estableció un sistema de creación y asignación de identificadores únicos a los organismos modificados genéticamente. De este modo y a partir de entonces, los OMGs se identifican mediante un código específico similar a un código de barras. Este código se denomina “*identificador único*” y permite detectar fácilmente un OMG concreto en la etiqueta del producto mediante un código compuesto por cifras y letras. Así, por primera vez aparece regulado un sistema preciso que contribuye a la trazabilidad de los OMGs y a que el consumidor esté debidamente informado.

Unos meses después, el 19 de mayo de 2004, la Comisión Europea, con el consentimiento tácito de sus Estados Miembros, produjo el **levantamiento de la moratoria de facto** mantenida desde el 11 de junio de 1999. El fin de la moratoria, permitió la introducción de nuevas autorizaciones de variedades transgénicas en Europa.

En 2006, se aprobó el **Reglamento 1981/2006/CE** de la Comisión, de fecha 22 de diciembre de 2006, sobre las normas de desarrollo del artículo 32 del Reglamento 1829/2003/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo al laboratorio comunitario de referencia para los organismos modificados genéticamente. En 2008, gracias al **Reglamento 298/2008/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo, de fecha 11 de Marzo de 2008, se modificó nuevamente el Reglamento 1829/2003/CE anterior en lo que se refiere a las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión.

Los hitos más recientes de esta evolución normativa que estamos tratando los constituyen la publicación de la **Directiva 2008/27/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo de fecha 11 de marzo del 2008, que modifica la Directiva 2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente, en lo que se

refiere a las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión con el fin de adaptar al nuevo procedimiento algunos anexos así como determinados criterios de notificación como los relacionados con las disposiciones relativas a la fijación de umbrales de presencia adventicia y, la **Directiva 2009/41/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo de 2009, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

En la tabla 3.1 se presenta un esquema general sobre la normativa europea vigente más relevante sobre OMGs.

**Tabla 3.1 Normativa vigente más relevante sobre OMGs en la UE
(basada en Alcalde, 2009)**

Ámbito de aplicación	Normativa	Principales elementos regulados
Utilización confinada de microorganismos MGs	Directiva 90/219/CEE Directiva 98/81/CE Directiva 2009/41/CE	Clasifica los microorganismos modificados genéticamente en dos categorías según el riesgo que representen. Requiere notificación previa antes de comenzar las actividades. Define una lista de microorganismos modificados genéticamente que no presentan riesgos para la salud o el medio ambiente.
Liberación de OMGs al medio ambiente	Directiva 2001/18/CE Directiva 2008/27/CE	Diferencia entre utilización confinada, experimentación en campo abierto y comercialización. Establece el procedimiento de Evaluación de Riesgos, caso por caso. Exige el etiquetado de OMGs. Establece procedimiento de post-marketing monitoring. Establece registros de la información sobre las modificaciones genéticas de los OMGs y sobre la localización de los OMGs.
Autorización de alimentos y piensos procedentes de OMGs	Reglamento 1829/2003/CE Reglamento 641/2004/CE Reglamento 298/2008/CE	Establece los procedimientos de evaluación y autorización de alimentos y piensos MG. Define un procedimiento único para la autorización de OMGs en la UE. Establece umbral del 0,9% para la presencia adventicia de OMGs sin necesidad de etiquetado.
Trazabilidad y Etiquetado de los productos que contienen OMGs y sus derivados	Reglamento 1830/2003/CE Recomendación 2004/787/CE	Establece los requisitos de trazabilidad de los OMGs. Establece el código o identificador único para cada OMGs.
Coexistencia	Recomendación 2003/556/CE	Define la coexistencia. Expone una lista de principios y elementos generales para la elaboración mejores prácticas nacionales aplicables a la coexistencia. Deja su interpretación en manos de cada Estado Miembro.
Movimiento transfronterizo de OMGs	Reglamento 1946/2003/CE	Establece un sistema común de notificación y de intercambio de información sobre los movimientos transfronterizos de OMGs a terceros países.
Creación de sistema asignación de identificadores únicos a los OMGs	Reglamento 65/2004/CE	Establece un sistema de creación y asignación de identificadores únicos a los organismos modificados genéticamente. Se crean unos códigos denominados “identificadores únicos” que permiten detectar fácilmente un OMG concreto en la etiqueta del producto mediante un código compuesto por cifras y letras.
Laboratorio Comunitario de OMGs	Reglamento 1981/2006/CE	Establece un laboratorio comunitario de referencia (LCR) que se encargará de analizar OMGs así como de validar los métodos de detección e identificación para las autorizaciones de OMGs.

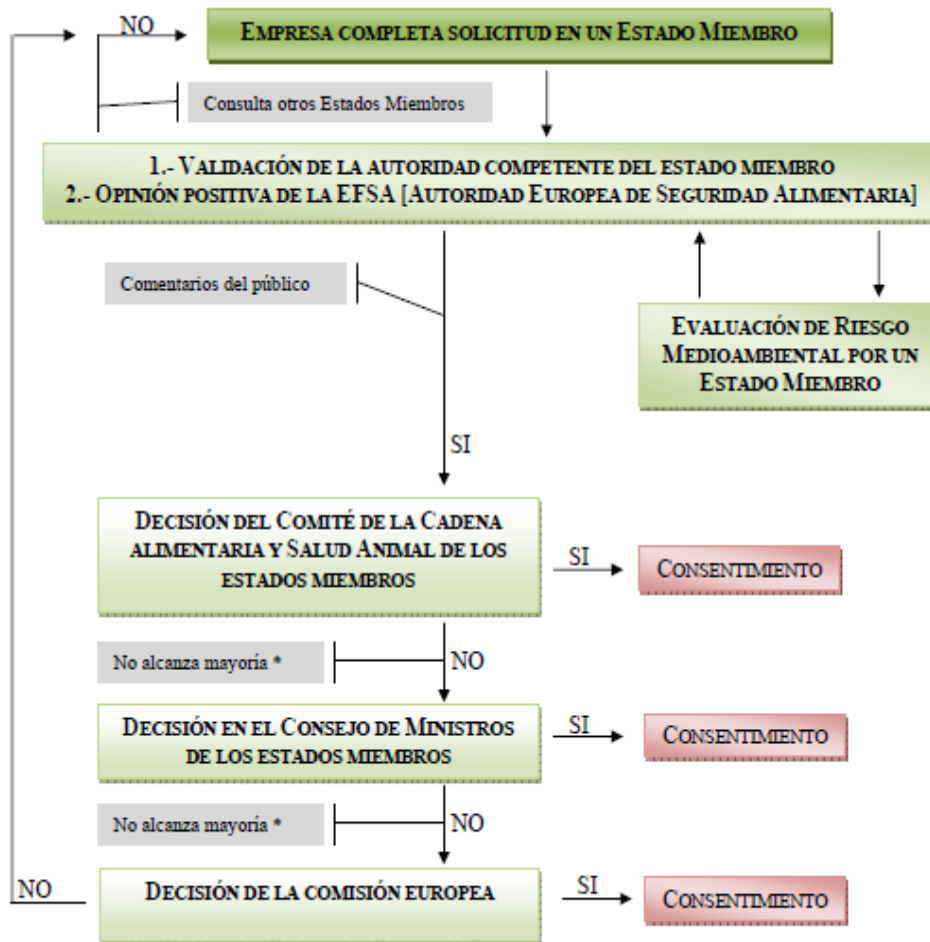
3.1.1. Autorización de OMGs

Aplicación de la Directiva 2001/18/CE y del Reglamento 1829/2003/CE

La Comisión Europea propuso, el 25 de julio de 2001, un paquete de medidas integradas en dos propuestas de Reglamento para controlar la presencia de organismos modificados genéticamente en los alimentos: un Reglamento para regular la autorización de alimentos y piensos procedentes de OMGs, el 1829/2003 y otro Reglamento sobre la trazabilidad y etiquetado de los productos que contengan OMG y sus derivados, el 1830/2003. Ambos Reglamentos son complementarios y deberán aplicarse conjuntamente. El Reglamento 1829/2003/CE armoniza, modificándola o derogándola, la legislación anterior en vigor sobre el etiquetado de los OMG: modifica, así, el Reglamento 258/97/CE, que ya no se aplica a los OMGs, y deroga los Reglamentos 1139/98/CE y el Reglamento 50/2000/CE y el Reglamento 49/2000/CE. El Reglamento se aplica a tres tipos de productos:

- Los OMGs destinados a la alimentación humana y animal.
- Los alimentos y piensos que contengan OMGs.
- Los alimentos y piensos que se hayan producido a partir de OMGs o que contengan ingredientes producidos a partir de estos organismos.

La obligación de etiquetado no se aplica a los restos de OMG en los productos (presencia involuntaria y técnicamente inevitable), que seguirán exentos de la obligación de etiquetado si no superan el umbral del 0,9%. Además, se excluyen del ámbito de aplicación del Reglamento los productos obtenidos mediante un auxiliar tecnológico modificado genéticamente (figura 3.1).



* La mayoría cualificada está en los 255 votos de 345 totales

Figura 3.1 La aprobación de alimentos y piensos MG en la UE

Fuente: Fundación ANTAMA, 2009

Sin embargo, el Reglamento 1829/2003/CE también prevé un procedimiento único de autorización, para todos los alimentos y piensos que contengan OMGs. El operador industrial puede presentar su solicitud de acuerdo con el presente Reglamento o puede dividir su demanda y tratarla a la vez según el presente Reglamento y la Directiva

2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente. Esta última es la única que permite el cultivo de OMGs. En cualquier caso, para obtener una autorización alimentaria, el operador industrial debe pedir una autorización en virtud del presente Reglamento.

Según el procedimiento único de autorización se establece el principio de “una puerta, una llave”, y se considera factible una única solicitud tanto para los usos alimentarios como para el cultivo. Es decir, cuando el OMG obtiene su autorización, puede utilizarse en la alimentación humana y animal, y se autorizará también para el cultivo o la liberación intencional en el medio ambiente.

Esta liberación implica algunas obligaciones introducidas por la Directiva 2001/18/CE como, por ejemplo, la evaluación de los riesgos para el medio ambiente y la inclusión de información para identificar y detectar el OMG (identificador único). Una vez presentada la solicitud, la autoridad en cuestión acusa recibo de la solicitud por escrito en el plazo de catorce días, e informa a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) responsable de la evaluación del riesgo en el sector alimentario. Esta última tiene un plazo de seis meses para realizar dicha evaluación (Costa, 2006).

La Comisión es la responsable de la gestión del riesgo. Sobre la base de la evaluación del riesgo realizada por la EFSA, la Comisión redacta un proyecto de decisión por la que se acepta o rechaza la solicitud en el plazo de tres meses, y después lo presenta al Comité Permanente de la Cadena Alimentaria y de Sanidad Animal. Si este Comité adopta la propuesta, la Comisión la adopta a su vez definitivamente; en caso contrario, la propuesta pasa al Consejo de Ministros. Si éste no se pronuncia sobre la propuesta en el plazo de tres meses o si no llega a lograr una mayoría cualificada a favor o en contra, la Comisión

acepta su propuesta. Esta autorización tendrá una duración de diez años renovables (figura 3.2).

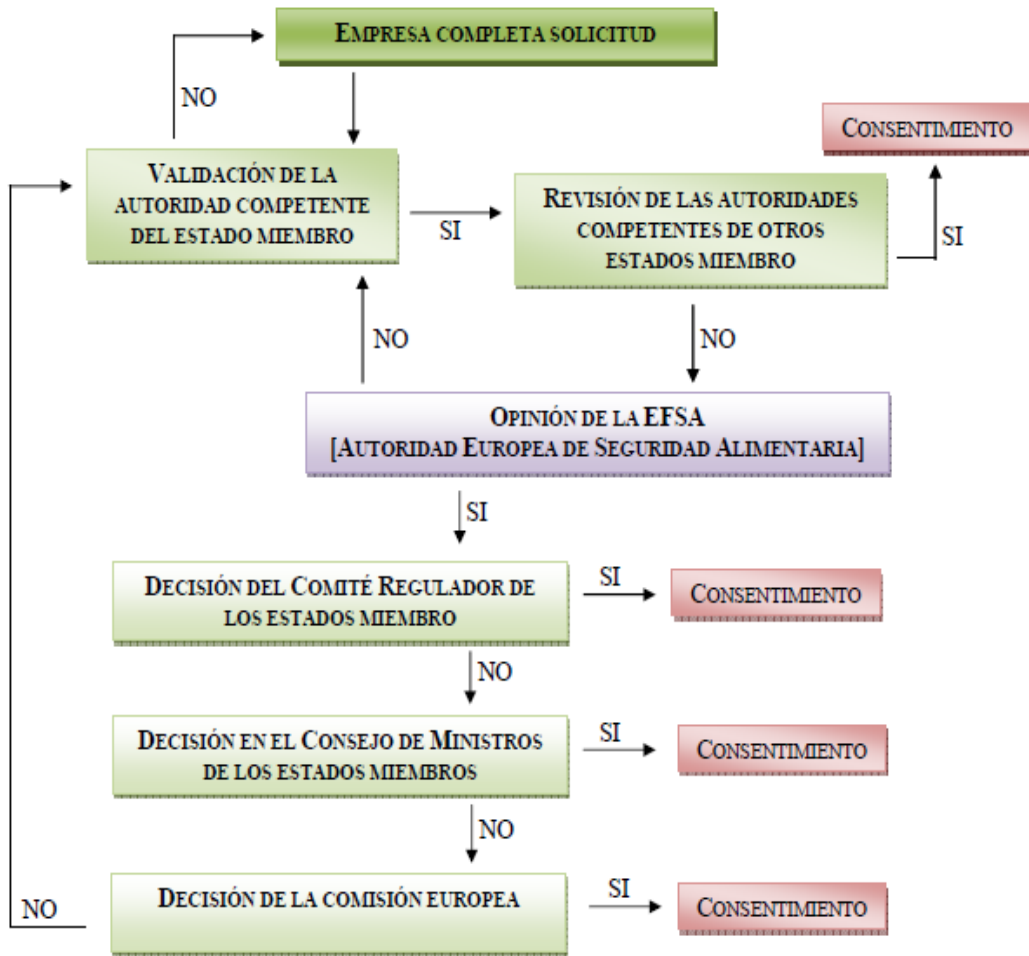


Fig.ura 3.2 La aprobación para importación y/o cultivo de OMGs en la UE

Fuente: Fundación ANTAMA, 2009

3.1.2. Etiquetado de OMGs

Uno de los principales campos de batalla en el debate social acerca de los OMGs en la UE ha sido el del etiquetado de los productos destinados al consumo. Por ello, la Unión Europea se ha esmerado en garantizar la trazabilidad y el etiquetado de los OMGs así como, de los productos obtenidos a partir de los mismos y el control exhaustivo a lo largo de toda la cadena alimentaria.

Las primeras normas de etiquetado de organismos modificados genéticamente que se adoptaron en la Unión Europea datan del año 1979, con la **Directiva 79/112/CEE**, de 18 de diciembre, siendo ésta la primera directiva relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios destinados al consumidor final, que posteriormente fue derogada en el año 2000 por la **Directiva 2000/13/CE**, de 20 de marzo y cuyo anexo I fue modificado posteriormente por la **Directiva 2001/101/CE**, de 26 de noviembre.

Sin embargo, hasta el año 1997 no se publicó la primera referencia explícita al etiquetado de organismos modificados genéticamente. Fue con la **Directiva 97/35/CE**, de 18 de junio, con la que se adaptó al progreso técnico por segunda vez la Directiva 90/220/CEE que indicaba que en el etiquetado se debía hacer constar la frase: “*puede contener OMGs*”, aludiendo a la posibilidad cuando se trataba de una combinación de variedades o diversas procedencias del alimento, o “*contiene OMGs*” cuando se tenía la certeza de su presencia.

En este mismo año, se publicó la **Directiva 97/4/CE**, de 27 de enero, por la que se modificó la Directiva 79/112/CEE, relativa a la aproximación de las legislaciones de los

Estados miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios destinados al consumidor final.

Poco después, se publicó el **Reglamento 1813/1997/CE**, de 19 de septiembre, relativo a la indicación obligatoria en el etiquetado de determinados productos alimenticios fabricados a partir de organismos modificados genéticamente de información distinta a la prevista en la Directiva 79/112/CEE. Este Reglamento fue derogado tan sólo un año más tarde por el **Reglamento 1139/1998/CE**, de 26 de mayo, con el fin de cubrir los alimentos modificados genéticamente que habían sido autorizados con anterioridad al Reglamento 258/1997/CE y que no se consideraban amparados por el Reglamento 1813/1997/CE. Este nuevo reglamento incluye la obligación de etiquetar como: “*fabricado a partir de soja (o maíz) modificados genéticamente*”; haciendo referencia a dos Decisiones:

- **Decisión 96/281/CE**, de 3 de abril, relativa a la comercialización de semillas de soja (*Glycine max L.*) modificadas genéticamente con una mayor resistencia al herbicida glifosato, de conformidad con la Directiva 90/220/CEE del Consejo.
- **Decisión 97/98/CE**, de 23 de enero, relativa a la comercialización de maíz (*Zea mays L.*) modificado genéticamente con una alteración de las propiedades insecticidas conferidas por el gen de la endotoxina Bt, combinada con una mayor resistencia al herbicida glufosinato de amonio, con arreglo a la Directiva 90/220/CEE del Consejo.

Este Reglamento se vio modificado años más tarde por el **Reglamento 49/2000/CE**, de 10 de enero, que junto con el **Reglamento 50/2000/CE**, también de 10 de enero, relativo al etiquetado de los productos alimenticios o ingredientes alimentarios que

contienen aditivos y aromas modificados genéticamente o producidos a partir de organismos modificados genéticamente, indican la obligatoriedad de indicar en el etiquetado la presencia de cualquier ingrediente obtenido mediante la aplicación de la biotecnología siempre que este se encuentre en una proporción superior al 1%. Actualmente este límite ha vuelto a descender, para situarse en el 0,9%.

Un año más tarde, la anteriormente citada **Directiva 2001/18/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo, estableció que el etiquetado de alimentos OMGs tiene que indicar claramente la presencia de organismos modificados genéticamente. Además, establece que en la etiqueta o en la documentación adjunta deberá figurar la frase *“Este producto contiene organismos modificados genéticamente”*.

Unos años después, concretamente el 18 de abril de 2004, los Reglamentos 49/2000/CE y 50/2000/CE quedaron derogados, al entrar en vigor las nuevas normativas sobre la trazabilidad y etiquetado de organismos modificados genéticamente en la Unión Europea: el **Reglamento 1829/2003/CE** y el **Reglamento 1830/2003/CE**. Su redacción ha estado precedida de intensos debates y ha jugado un papel de vital importancia en el levantamiento de la “moratoria de facto”, ya que éste estaba condicionado por la elaboración de unas normativas más restrictivas en cuanto a trazabilidad y etiquetado de los OMGs.

Un aspecto importante regulado por el **Reglamento 1829/2003/CE**, es el tipo de productos a los que se refiere, aplicándose a tres tipos de productos tales como los OMGs destinados a la alimentación humana y animal, los alimentos y piensos que contengan OMGs y los alimentos y piensos que se hayan producido a partir de OMGs o que contengan ingredientes producidos a partir de éstos.

Un hecho característico de este Reglamento es que es más restrictivo que la legislación anterior, ya que se refiere indistintamente a todos los alimentos elaborados con OMGs, sin diferenciar entre aquellos que contienen ADN o proteínas modificadas genéticamente y los que no, marcando una diferencia sustancial frente a la legislación anterior sobre OMGs que se aplicaba únicamente a los alimentos con restos de OMGs en el ADN, Además, esta legislación también cubre todos los piensos modificados genéticamente, y prevé el mismo sistema de evaluación, autorización y etiquetado que para los alimentos destinados al consumo humano (Alcalde, 2009).

El Reglamento 1829/2003/CE indica que deberán ser etiquetados los alimentos que vayan a suministrarse como tales a los consumidores y que contengan o estén compuestos por OMGs, o contengan ingredientes producidos a partir de estos organismos. En estos alimentos en la lista de ingredientes figurará entre paréntesis inmediatamente después del ingrediente en cuestión el texto “*modificado genéticamente*” o “*producido a partir de [nombre del ingrediente] modificado genéticamente*”.

También se indica que están sujetos a requisitos específicos en materia de etiquetado los piensos destinados a la alimentación animal que contengan o estén compuestos por OMGs, o bien producidos a partir de OMGs. En dichos casos las palabras “[*nombre del organismo*] *modificado genéticamente*” o “*producidos a partir de [nombre del organismo] modificado genéticamente*” aparecerán entre paréntesis inmediatamente a continuación del nombre específico del pienso.

Uno de los elementos más positivos de este Reglamento es que prevé un **Procedimiento Único de Autorización**, de tal forma que el solicitante puede optar por presentar su solicitud de acuerdo con dicho Reglamento para conseguir una autorización exclusivamente alimentaria o puede dividir su demanda y solicitar la autorización según el

Reglamento 1829/2003/CE y la Directiva 2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de OMGs, de forma conjunta. Es decir, según el procedimiento único de autorización el solicitante puede presentar una única solicitud tanto para uso alimentario como para el cultivo de dicha especie vegetal modificada genéticamente.

Con el fin de complementar el Reglamento 1829/2003/CE, un año después se publicaron dos reglamentos; el **Reglamento 65/2004/CE**, por el que se estableció un sistema de creación y asignación de identificadores únicos a los OMGs (2 ó 3 dígitos para el notificador, 5 ó 6 dígitos para el evento y 1 dígito de verificación) y el **Reglamento 641/2004/CE** sobre las normas de desarrollo del Reglamento 1829/2003/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la solicitud de autorización de nuevos alimentos y piensos modificados genéticamente, la notificación de productos existentes y la presencia accidental o técnicamente inevitable de material modificado genéticamente cuya evaluación de riesgo haya sido favorable.

Posteriormente, en 2008, se publicó el **Reglamento 298/2008/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se modifica nuevamente el Reglamento 1829/2003/CE sobre alimentos y piensos modificados genéticamente, únicamente en lo que se refiere a las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión.

En lo referente a la trazabilidad y el etiquetado, en el mismo año del Reglamento 1829/2003/CE, se publicó el **Reglamento 1830/2003/CE** que también regulaba los OMGs y a la trazabilidad de los alimentos y piensos producidos a partir de éstos. De este modo, se modificó la Directiva 2001/18/CE, estableciendo un marco para regular la trazabilidad de productos que contienen o están compuestos por OMGs y de los alimentos así como de piensos producidos a partir de OMGs, con el fin de facilitar el

etiquetado preciso, el seguimiento de los efectos en el medio ambiente y la salud, y la aplicación de medidas de gestión de riesgo adecuadas.

En el caso de los alimentos que contienen OMGs, queda recogida la obligación de que en todas las fases de la comercialización del producto se transmita por escrito la mención de que el producto contiene o está compuesto por OMGs. Asimismo, se indica que en la etiqueta de estos productos que contienen o están compuestos por OMGs deberá constar la indicación “*Este producto contiene organismos modificados genéticamente*”, o bien “*Este producto contiene [nombre del o de los organismos] modificado[s] genéticamente*”.

En el caso de los piensos producidos a partir de OMGs, se recoge la obligación de que, cuando se comercialice un producto producido a partir de OMGs, se transmita por escrito la indicación de cada ingrediente alimenticio producido a partir de OMGs, o la indicación de cada materia prima o aditivo para la fabricación de pienso producidos a partir de OMGs. Posteriormente, el Reglamento 1830/2003/CE, se vio afectado por la **Recomendación 2004/787/CE** de la Comisión, relativa a las directrices técnicas de muestreo y detección de organismos modificados genéticamente y de material producido a partir de organismos modificados genéticamente, como productos o incorporados a productos, tal y como vienen determinados en el Reglamento 1830/2003/CE.

Por otro lado, en lo que se refiere a normas de aplicación nacional española, en la Ley 9/2003 y en el Real Decreto 178/2004 también se regula la trazabilidad y el etiquetado, con la obligación de que los operadores que comercialicen estos productos conserven y transmitan el/los identificador/es único/s asignado/s a los distintos OMGs que manipulen, facilitando la aplicación de medidas de gestión de riesgo adecuadas, incluida en su caso la retirada de productos.

3.1.3. Autoridades relacionadas con OMGs

Sin perjuicio de las Autoridades europeas citadas en el apartado anterior, existen numerosos instrumentos legales en España gestionados por uno de los organismos más relevantes en Agrobiotecnología relacionado con OMGs: el **Consejo Interministerial de Organismos Modificados Genéticamente**. La función principal de este organismo es la de conceder las autorizaciones de comercialización de organismos modificados genéticamente y las actividades de utilización confinada y liberación voluntaria que correspondan a la Administración General del Estado. Este organismo se encuentra adscrito al Ministerio de Medio ambiente, Rural y Marino (MARM). El Consejo funciona en coordinación con la Comisión Nacional de Bioseguridad, y es responsable de la coordinación e intercambio de información entre las CCAA y con la Comisión Europea.

La **Comisión Nacional de Bioseguridad** (CNB), es un órgano colegiado de carácter consultivo cuya función es informar preceptivamente sobre todas las solicitudes de autorización correspondientes a OMGs, según lo dispuesto en la disposición adicional segunda de la Ley 9/2003. El informe de la CNB puede ser preceptivo, pero en ningún caso es vinculante para las autoridades que toman la decisión final (Albert y Roda, 2004). Asimismo, también hay que destacar la función de asesoramiento sobre los planes de seguimiento y normas de coexistencia de la **Comisión Nacional de Biovigilancia**, cuya creación quedó reflejada en el **Real Decreto 1697/2003/CE**, de 12 de diciembre. Dicha Comisión se configura como órgano de asesoramiento en materia de OMGs en el ámbito de las competencias del MARM, en especial, con la función de informar sobre el establecimiento, desarrollo y aplicación de los planes de seguimiento de variedades modificadas genéticamente o transgénicas, así como sobre la coexistencia entre cultivos con organismos genéticamente modificados y los cultivos convencionales y ecológicos.

3.2. ASPECTOS REGULATORIOS DE LOS NUEVOS ALIMENTOS

Continuando con los aspectos regulatorios de la Agrobiotecnología un segundo objetivo legislativo se ha centrado en los aspectos relacionados con los alimentos modificados genéticamente como nuevos alimentos e ingredientes alimentarios.

Volviendo a un análisis desde un punto de vista cronológico, es preciso destacar que la primera aproximación a la regulación comunitaria sobre nuevos alimentos se encuentra en la **Directiva 93/5/CEE** del Consejo, de 25 de febrero, incorporada a la legislación española a través del **Real Decreto 1118/1998**, que estableció un procedimiento para ampliar e intensificar las evaluaciones y estudios científicos, hasta entonces encomendados en exclusiva al Comité Científico de la Alimentación Humana, mediante la participación de los Estados miembros y su cooperación, en materia de examen científico de las cuestiones relacionadas con productos alimenticios.

Dos años después, entró en vigor un acuerdo internacional establecido por la Organización Mundial del Comercio (OMC) a partir de la Ronda de Uruguay llamado **Acuerdo sobre Obstáculos Técnicos al Comercio (OTC)** de fecha 1 de enero de 1995. El objetivo del Acuerdo es el de evitar el uso de requisitos técnicos nacionales o regionales como obstáculos técnicos injustificados al comercio. El Acuerdo cubre todo tipo de bienes de consumo y toda norma existente, incluidos los requisitos de calidad para los alimentos.

El Acuerdo OTC cubre medidas diseñadas para proteger al consumidor del engaño y el fraude económico. El Acuerdo dispone que todas las normas y reglamentos deban tener una finalidad legítima y que el impacto o coste de aplicar la norma deba ser proporcional

al propósito de la norma. También dispone que si hay dos o más formas de lograr el mismo objetivo, se deberá adoptar por la alternativa menos restrictiva para el comercio.

El acuerdo OTC, en lo que se refiere al sector agroalimentario, supone en la práctica un límite a las exigencias del etiquetado por parte de los países importadores ya que no permite la discriminación de los productos modificados genéticamente.

Unos años más tarde, en 1997, se redactó la **Recomendación 97/618/CE** de la Comisión de 29 de julio, relativa a los *aspectos científicos y a la presentación necesaria para secundar las solicitudes de puesta en el mercado de nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios*.

Sin embargo, el hito legislativo más destacado fue la publicación del **Reglamento 258/97/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo, de fecha 27 de enero, sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios, desarrollado por el **Reglamento 1852/2001/CE** de la Comisión, de 20 de septiembre de 2001, por el que se establecen normas detalladas para hacer públicas determinadas informaciones y para la protección de la información facilitada de conformidad con el Reglamento 258/97/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.

Esta norma fue crucial, ya que desde que en Europa se aprobó el Reglamento 258/97/CE, la innovación y la Agrobiotecnología han desencadenado una respuesta tecnológica exponencial generando nuevos alimentos e ingredientes alimentarios modificados genéticamente de diversa naturaleza.

Este Reglamento afecta tanto a nuevos procesos o aplicaciones tecnológicas sobre alimentos o ingredientes ya conocidos, como a aquellos que provienen de terceros países y, que a su vez:

- Contengan o consistan en organismos modificados genéticamente.
- Estén producidos a partir de OMGs pero que no los contengan.
- Sean de estructura molecular primaria nueva o modificada intencionadamente.
- Consistan en microorganismos, hongos o algas u obtenidos a partir de éstos.
- Consistan en vegetales, u obtenidos a partir de ellos.
- Se hayan sometido a un proceso de producción no utilizado habitualmente, que provoca en su composición o estructura cambios significativos de su valor nutritivo, de su metabolismo o de su contenido en sustancias indeseables.

Por otra parte, esta disposición también incluye a los productos alimentarios obtenidos a partir de animales, excepto los alimentos e ingredientes alimentarios obtenidos mediante prácticas tradicionales de multiplicación o de selección y cuyo historial de uso alimentario sea seguro.

Cuatro años más tarde, se publicó el **Reglamento 1852/2001/CE**, de 20 de septiembre, por el que se establecieron normas detalladas para hacer públicas determinadas informaciones y para la protección de la información facilitada de conformidad con el Reglamento 258/1997/CE.

En la tabla 3.2 se recoge la normativa vigente en la UE sobre nuevos alimentos.

Tabla 3.2 Normativa general vigente sobre Nuevos alimentos en la UE

Ámbito de aplicación	Normativa	Principales elementos regulados
Procedimiento de cooperación con la Comisión Europea en materia de examen científico de las cuestiones relacionadas con productos alimenticios	Directiva 93/5/CEE	<p>La preparación de protocolos para la evaluación de riesgos de componentes alimentarios.</p> <p>La elaboración de los estudios de consumo alimentario necesarios, especialmente para la determinación o evaluación de las condiciones de uso de aditivos alimentarios o la fijación de los valores límite para otras sustancias que entren en la composición de los productos alimenticios.</p> <p>Investigaciones sobre elementos del régimen alimentario en España sobre los contaminantes biológicos o químicos de los productos alimenticios.</p>
Aspectos científicos y requisitos para las solicitudes de puesta en el mercado de nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios	Recomendación 97/618/CE	<p>Establece la necesidad de que los nuevos alimentos y los nuevos ingredientes alimentarios sean objeto de una única evaluación de la seguridad mediante un procedimiento comunitario antes de su comercialización en la Comunidad.</p> <p>Se establece que los operadores económicos garanticen la presentación de la información necesaria para secundar las solicitudes y que los Estados Miembros tengan organismos competentes para evaluar.</p>
Nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios	Reglamento 258/97/CE	<p>Tiene por objeto la puesta en el mercado en la Comunidad de nuevos alimentos y de nuevos ingredientes alimentarios que:</p> <ul style="list-style-type: none"> - que contengan OMGs o que consistan en dichos organismos; - producidos a partir de OMGs, pero que no los contengan; - de estructura molecular primaria nueva o modificada; - microorganismos, hongos o algas u obtenidos a partir de éstos; - vegetales, u obtenidos a partir de ellos, y los ingredientes alimentarios obtenidos a partir de animales, excepto los alimentos e ingredientes alimentarios obtenidos mediante prácticas tradicionales de multiplicación o de selección y cuyo historial de uso alimentario sea seguro; - sometido a un proceso de producción que provoca en su composición o estructura cambios significativos de su valor nutritivo, de su metabolismo o de su contenido en sustancias indeseables.
Difusión y protección de información	Reglamento 1852/2001/CE	<p>Establece normas detalladas para hacer públicas determinadas informaciones y para la protección de la información facilitada de conformidad con el Reglamento 258/1997/CE.</p>

3.2.1. Autoridades relacionadas con los nuevos alimentos

Como se ha visto en el apartado anterior, no hay en la actualidad sistemas reglamentarios internacionales específicos. Sin embargo, muchas organizaciones internacionales están involucradas en el desarrollo de protocolos para los alimentos, principalmente para aquellos modificados genéticamente.

La **Comisión del Codex Alimentarius** (Codex) es el organismo conjunto de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) constituido para proteger la salud de los consumidores y asegurar unas prácticas correctas de elaboración de alimentos. Esta Comisión también es responsable de compilar los estándares, los códigos de práctica, los alineamientos y las recomendaciones que componen el **Codex Alimentarius**: el código alimentario internacional.

El Codex está desarrollando principios para el análisis de riesgos para la salud humana de los alimentos modificados genéticamente. La premisa de estos principios dicta una evaluación previa a la comercialización, realizada en forma individual y que incluya una evaluación tanto de los efectos directos (del gen insertado) como de los efectos no deseados (que pueden surgir como consecuencia de la inserción del nuevo gen). Los principios del Codex no tienen un efecto de obligatoriedad sobre la legislación nacional, pero son mencionados específicamente en el Acuerdo Sanitario y Fitosanitario (Acuerdo SPS) de la Organización Mundial de Comercio (OMC), y pueden usarse como referencia en el caso de disputas comerciales.

Uno de los organismos de mayor relevancia en agroalimentación es la **Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria** (EFSA). La EFSA -constituida a partir del Reglamento 178/2002/CE, de 28 de enero, modificado por el Reglamento 1642/2003/CE- es el organismo responsable de las evaluaciones científicas del impacto de los OMGs, así como de los alimentos y los piensos producto de la ingeniería genética sobre el medio ambiente y la salud de las personas y los animales.

Otra de las funciones más importantes de la EFSA es la de anticiparse y estudiar nuevos riesgos alimentarios, incluidos los derivados de la aplicación de prácticas biotecnológicas, en la producción agroalimentaria. Su fin es el de incrementar los niveles existentes de calidad, independencia y transparencia de los dictámenes científicos en estos ámbitos, y hace un énfasis especial en la comunicación del riesgo.

En España también se creó el homólogo institucional a nivel nacional, a través de la **Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición** (AESAN). La AESAN quedó inicialmente constituida, por la Ley 11/2001 del 5 de julio, como un organismo público con carácter de organismo autónomo, con personalidad jurídico-pública, diferenciada y con plena capacidad de obrar, y cuyo Estatuto se publicó en el Real Decreto 709/2002. Actualmente la AESAN se encuentra adscrita al Ministerio de Sanidad y Política Social, que tiene como misión garantizar el más alto grado de seguridad y promover la salud de los ciudadanos, trabajando para reducir los riesgos de las enfermedades transmitidas o provocadas por los alimentos, para garantizar la eficacia de los sistemas de control de los alimentos, para promover el consumo de los alimentos sanos, favoreciendo su accesibilidad y la información sobre los mismos y para planificar, coordinar y desarrollar estrategias y actuaciones que fomenten la información, educación y promoción de la salud en el ámbito de la nutrición.

3.3. ASPECTOS REGULATORIOS SOBRE LA PROTECCIÓN JURÍDICA DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

En el ámbito de los derechos inmateriales, existe la categoría de propiedades especiales entre las cuales destacan la Propiedad Industrial y la Propiedad Intelectual, materias que vienen reguladas por sus disposiciones legales específicas.

El derecho de Propiedad Industrial, tal y como lo entendemos hoy en día, abarca varias disciplinas jurídicas como el derecho de patentes, el derecho de las obtenciones vegetales y el derecho del registro de marcas y diseños industriales. En este sentido, la definición proporcionada por la Oficina Española de Patentes y Marcas es que se entiende por Propiedad Industrial a un conjunto de derechos exclusivos que protegen tanto la actividad innovadora manifestada en nuevos productos, nuevos procedimientos o nuevos diseños, como la actividad mercantil, mediante la identificación en exclusiva de productos y servicios ofrecidos en el mercado.

Debemos señalar que para el objeto del presente capítulo de la tesis se van a desarrollar los aspectos concernientes al derecho de propiedad industrial, su regulación jurídica y naturaleza, haciendo especial hincapié en las invenciones y en las obtenciones vegetales, por considerarse de mayor relevancia para el estado de la técnica de la Agrobiotecnología y por su impacto socioeconómico. Por ello, los **derechos de Propiedad Industrial** que guardan relación con los diferentes productos derivados de la Agrobiotecnología que van a ser tratados con mayor profundidad en la presente tesis son el título de Patente y el título de Obtentor de una nueva variedad vegetal.

3.3.1. Regulación Internacional

Antes de introducir y profundizar en las normas específicas que desarrollan ambas figuras legislativas, es necesario hacer alusión a dos acuerdos internacionales por la trascendencia socioeconómica que tienen en lo referente a Propiedad Industrial.

Acuerdo TRIPS

La Ronda Uruguay del Acuerdo General sobre Aranceles y Comercio (GATT) creó un Acuerdo sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (ADPIC), más conocido como TRIPS, acrónimo de su expresión en inglés “*Agreement on Trade Related Aspects of Intellectual Property Issues*”.

El aumento de las relaciones económicas internacionales entre los estados del mundo ha traído consigo problemas de falsificación y piratería relacionados con la propiedad intelectual. Estos problemas han pasado a ser una cuestión normativa de suma importancia en las relaciones comerciales debido al apreciable valor de los conocimientos técnicos que encierran los productos comercializados. La falta de protección de la propiedad intelectual en el ámbito internacional ha causado una creciente tensión en las relaciones económicas y ha obstaculizado la transferencia y la innovación tecnológica (Informe FAO, Roma 2000).

El Acuerdo sobre los ADPIC abarca todas las formas de propiedad intelectual y se propone armonizar, reforzar y garantizar la aplicación eficaz de las normas de protección en los ámbitos nacional e internacional. De forma global contiene:

- Disposiciones de aplicabilidad de los principios generales del GATT y de las disposiciones incluidas en los acuerdos internacionales relativos a la propiedad intelectual, en su parte I.
- Normas relativas a la existencia, alcance y ejercicio de los derechos de propiedad intelectual relacionados con el comercio (parte II), la observancia (parte III) y la adquisición y el mantenimiento (parte IV) de la protección de tales derechos.

Cualquier país que ratifique el GATT acepta la obligación de establecer unos estándares mínimos de propiedad intelectual en los campos de la tecnología, excepto donde la explotación de la invención deba impedirse para proteger el orden público, la salud humana, animal o vegetal, o para evitar un serio perjuicio al medio ambiente.

De este modo el Acuerdo TRIPS permite a los Estados Miembros proporcionar exclusiones de patentabilidad pero deben prever el establecimiento de un mecanismo *sui generis* para la protección de las obtenciones vegetales, como una solución sustitutiva o complementaria del sistema de patentes.

La idea de fondo expresada en el párrafo anterior, es la de crear un mecanismo de protección que sea tan eficaz como el sistema de patentes. De hecho, la finalidad principal de esta disposición es proteger las técnicas y los conocimientos de las obtenciones vegetales. No obstante, prevé una solución más flexible que la de las patentes para la protección de las variedades vegetales y, al mismo tiempo, ofrece la posibilidad de una utilización más amplia de la diversidad biológica vegetal por parte de los agricultores locales, los obtentores no industriales y las comunidades autóctonas, con el objeto de estimularlos a seguir contribuyendo a la preservación y el mejoramiento de los recursos genéticos de las plantas (Informe FAO, Roma 2000).

Convenio UPOV

La Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV), es una organización intergubernamental establecida en 1961 con el objeto de coordinar la aplicación internacional de los derechos de los obtentores de variedades vegetales establecidos por el Convenio Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales. La UPOV trabaja en estrecho contacto con la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual de las Naciones Unidas (OMPI).

El Convenio de la UPOV (CUPOV), adoptado en 1961, tiene por finalidad garantizar que los Estados Miembros reconozcan y protejan las nuevas variedades de los obtentores y que a éstos se les concedan los derechos exclusivos de explotación en caso que las variedades sean distintas, homogéneas y estables.

En un primer momento el obtentor tenía derecho a la protección cualquiera que sea el origen, artificial o natural, de la variación inicial a partir de la cual ha obtenido su variedad, lo que incluye el simple descubrimiento de una nueva variedad vegetal. Sin embargo en la última versión del CUPOV – el Acta de 19 de marzo de 1991- se estableció que el simple descubrimiento no es suficiente. El obtentor debe también haber perfeccionado su variedad para tener derecho a la protección.

El CUPOV recoge dos conceptos con un gran impacto en el desarrollo de la biotecnología: la **excepción del obtentor** y el **privilegio del agricultor**.

De acuerdo con la excepción del obtentor no se requiere la autorización de éste para la utilización de la variedad como fuente inicial de variación para crear nuevas variedades o para la explotación posterior de estas nuevas variedades. En consecuencia y en virtud del

Acta de 1991 CUPOV, las únicas excepciones obligatorias al derecho del obtentor son las relativas a los actos realizados en un marco privado con fines no comerciales, los actos realizados a título experimental, y a los actos realizados a los fines de la creación y explotación de otras variedades, siempre que éstas no sean esencialmente derivadas. La excepción al derecho del obtentor no se aplica a las variedades esencialmente derivadas, es decir a las variedades derivadas fundamentalmente de otra variedad inicial que conserve la expresión de los caracteres esenciales que resulten del genotipo o de la combinación de genotipos de la variedad inicial.

Sin embargo, conviene observar que según el Acta de 1991 CUPOV, si una variedad modificada genéticamente estuviera protegida únicamente a través de los derechos de protección vegetal reconocidos por la UPOV, cualquiera podría desarrollar sus variedades modificadas genéticamente sin tener que pagar derechos a terceros. Por lo que se concluye que, la excepción del privilegio del obtentor se basa en el libre acceso a los recursos genéticos vegetales y supone un decaimiento del principio de dependencia, al permitir al obtentor la utilización de una variedad protegida como fuente de creación de otras variedades, así como la comercialización de éstas sin el consentimiento del titular de la misma.

El **privilegio del agricultor** permite al agricultor a reutilizar las semillas de una variedad adquirida para su propio uso. Hasta que la revisión del CUPOV sea adoptada por las leyes nacionales, los agricultores que legítimamente siembren semillas de una variedad protegida tienen capacidad legal para reservar parte de las semillas de la primera cosecha de plantas para sembrar en sus propios terrenos para producir una segunda cosecha, así como las subsiguientes. Por lo tanto el privilegio del agricultor consiste en una autorización a éste para replantar el producto de la cosecha de una variedad protegida con la finalidad de volver a reproducirla, sin necesidad de pagar royalties al titular de la protección. Por tanto,

esta excepción a los derechos del titular tiene en cuenta la condición de materia viva de las variedades vegetales y ha sido exportada al más moderno régimen de protección de las invenciones biotecnológicas (Sánchez Gil, 1997; Sánchez Gil 2008).

Como conclusión de los preceptos establecidos por estos dos convenios de ámbito internacional, los países deben prever que aunque se establezca un sistema *sui generis* de protección deben estudiar atentamente las relaciones entre este sistema y otras formas de protección, sobre todo en el caso de las patentes, homogeneizando las pautas establecidas tanto por el Acuerdo TRIPS como por el Convenio UPOV.

La finalidad de esta homogeneización jurídica es que el sistema de protección debe estimular el progreso tecnológico necesario para garantizar el crecimiento y el desarrollo económicos; facilitar la transferencia de tecnología y el acceso a variedades extranjeras; fomentar las inversiones, incluidas las de las empresas extranjeras; y ofrecer alicientes a los obtentores locales (Informe FAO, Roma 2000).

Al mismo tiempo, debe evitar, en la medida de lo posible, los inconvenientes que a menudo presentan los sistemas actuales de protección de las variedades vegetales, tales como la pérdida directa e indirecta de diversidad biológica como consecuencia de la actual difusión mundial de variedades uniformes; la pérdida de especies autóctonas y variedades de los agricultores; y la limitación de la protección a los esfuerzos e inversiones realizados por los obtentores modernos, sin reconocer los esfuerzos e inversiones de las generaciones anteriores (Informe FAO, Roma 2000).

Teniendo en cuenta el panorama legislativo internacional y que cada Estado puede adoptar las medidas necesarias para incorporar a sus regímenes jurídicos estas figuras de

protección, en el presente capítulo se tratará con mayor esmero las figuras de la Patente biotecnológica y de la Variedad Vegetal Protegida, ya que se han estimado como las principales herramientas de protección de la propiedad industrial para el objeto de la presente tesis; plantas modificadas genéticamente como vacunas comestibles: aspectos científicos y socioeconómicos.

3.3.2. Las Patentes Biotecnológicas

La primera propuesta de la Directiva sobre la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas y por consiguiente agrobiotecnológicas, data del año 1988, fecha en la que fue aprobada por la Comisión Europea pero que concitó la oposición de determinadas formaciones políticas del Parlamento Europeo por el hecho de que no incluía límites éticos a la patentabilidad.

Tras varios años de conciliación entre la Comisión y el Parlamento Europeo, fue rechazada en 1995 por el Parlamento, debido a la falta de acuerdo sobre los motivos de prohibición de patentabilidad por motivos éticos. Finalmente, la Comisión redactó un nuevo texto que fue aprobado por el Consejo y Parlamento Europeo el 6 de julio de 1998, que entró en vigor el 30 de julio del mismo año y, concedía a los Estados Miembros un plazo de dos años para adaptarlo a su Legislación Nacional.

Sin embargo si observamos la velocidad con la que se venían produciendo los avances en el campo de la Agrobiotecnología, podemos detectar la dificultad de asimilación de la trascendencia de los mismos por parte de la sociedad y de los legisladores. En relación con este aspecto, hay que destacar un hito para el desarrollo normativo de las patentes biotecnológicas y que fue la entrada en vigor del **Convenio sobre Bioética**, de 4 de abril

de 1997 para la protección de los derechos y la dignidad del ser humano respecto a las aplicaciones de la biotecnología, ratificado por España casi tres años después de su publicación, es decir el 29 de mayo de 1999 y que entró en vigor el 1 de enero del 2000.

La finalidad de dicho Convenio fue precisamente la de dar respuesta a las diversas inquietudes de la sociedad en este ámbito, garantizando la dignidad e identidad del ser humano frente a posibles peligros derivados de prácticas inadecuadas.

En este marco actuación, nació la **Directiva 98/44/CE**, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de julio, relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas, que desde entonces ofrece una herramienta para poder adaptar el marco legal de protección de las invenciones en la Unión Europea a las características de este sector de la innovación, mediante la figura jurídica de las patentes. Con ella, la Unión Europea pretendió garantizar una protección eficaz y uniforme para este tipo de invenciones en el conjunto de los Estados miembros, imprescindible para fomentar las inversiones en investigación y desarrollo de la industria biotecnológica europea y afianzar su posición competitiva en un mercado global.

La Directiva 98/44/CE, se incorporó finalmente al Derecho Español el 1 de mayo de 2002, mediante la Ley 10/2002, de 9 de abril, modificando la **Ley de Patentes 11/1986**. La presente Ley se estructura en cuatro artículos que desarrollan cuatro áreas fundamentales:

- a) Delimitación de las invenciones biotecnológicas (*Artículos 4 y 5 de la Ley 11/1986*)
- b) Regulación de las condiciones de depósito de la materia biológica (*Artículos 25, 44 y 45 de la Ley 11/1986*)
- c) Alcance de protección de las patentes (*Artículos 50, 52 y 53 de la Ley 11/1986*)

d) Licencias obligatorias por dependencia (*Artículos 86 y 89 de la Ley 11/1986*)

En primer lugar, se delimitan las invenciones biotecnológicas patentables, entendiendo como **patente** al título que reconoce el derecho de explotar en exclusiva la invención patentada, impidiendo a otros su fabricación, venta o utilización sin consentimiento del titular. Como contrapartida, la patente se pone a disposición del público para general conocimiento. El derecho otorgado por una Patente no es tanto el de la fabricación, el ofrecimiento en el mercado y la utilización del objeto de la Patente, que siempre tiene y puede ejercitar el titular sino, sobre todo y singularmente, "*el derecho de excluir a otros*" de la fabricación, utilización o introducción del producto o procedimiento patentado en el comercio. La duración de la Patente es de veinte años a contar desde la fecha de presentación de la solicitud. Para mantenerla en vigor es preciso pagar tasas anuales a partir de su concesión.

Sin embargo, la **Ley 10/2002**, de 29 de abril, admite explícitamente la patentabilidad de la materia biológica siempre que ésta haya sido aislada o producida mediante un procedimiento técnico. Este criterio es fundamental para distinguir la invención patentable, del descubrimiento no patentable "*el mero hallazgo de una enzima o de una secuencia de aminoácidos, no constituye más que un descubrimiento, que de por sí está excluido de patentabilidad. Diferente sería la obtención de dichos elementos de forma sintética*".

También se establece una línea divisoria entre lo que se puede patentar y lo que no, en el reino de la materia viva, previendo la posibilidad de denegar la patentabilidad de determinadas invenciones, por motivos éticos o de orden público. Entre las invenciones que, en todo caso, se consideran contrarias al orden público o a la moral, se incluyen cuatro supuestos de prohibición absoluta, que no son exhaustivos, y comprenden los procedimientos de clonación de seres humanos, los de modificación de la identidad

genética germinal de ser humano, las utilizaciones de embriones humanos con fines industriales o comerciales y los procedimientos de modificación de la identidad genética de los animales que supongan para éstos sufrimientos sin utilidad médica sustancial para el hombre o el animal, así como los animales resultantes de tales procedimientos. No obstante, la prohibición de utilización de embriones humanos con fines industriales o comerciales no afecta a las invenciones técnicas que tengan un objetivo terapéutico o de diagnóstico que se aplican al embrión y que le son útiles.

Los elementos aislados del cuerpo humano u obtenidos mediante un procedimiento técnico, incluidas las secuencias genéticas con una aplicación industrial determinada, podrán ser patentados cuando reúnan los requisitos generales de patentabilidad de las invenciones (novedad, altura inventiva, aplicación industrial, y suficiencia descriptiva).

Cuando la invención tenga por objeto una materia biológica de origen humano o utilice una materia de este tipo, la persona a quien se le hayan realizado la toma de muestras deberá ser informada y dar su consentimiento libre. Sin embargo, dicho consentimiento no podrá exigirse como condición de patentabilidad de la invención, ni su falta o inexactitud afectará a la validez de la patente ya concedida.

La prohibición de patentar variedades vegetales y razas animales se mantiene, con independencia de la forma en que aquellas sean obtenidas. No obstante, no alcanzará a la prohibición de patentar invenciones que tengan por objeto vegetales o animales, que serán patentables siempre que la viabilidad técnica de la invención no se limite a una variedad vegetal, definida en la **Ley 3/2000**, de 7 de enero, de régimen jurídico de la protección de las obtenciones vegetales, o a una raza animal determinada (Sánchez Gil, 2009).

Quedan también excluidos de la patentabilidad los procedimientos esencialmente biológicos de obtención de vegetales o de animales que consistan íntegramente en fenómenos naturales como el cruce o la selección. Esta exclusión no alcanza a los procedimientos microbiológicos u otros procedimientos técnicos, ni a los productos obtenidos mediante los mismos.

Cuando una invención tenga por objeto una materia biológica de origen vegetal o animal o que utilice una materia de este tipo, la descripción relativa a dicha invención deberá incluir, en su caso, información sobre el lugar geográfico de origen de dicha materia, cuando éste sea conocido, sin perjuicio del examen de las solicitudes de patente y de la validez de los derechos que se deriven de las patentes en vigor.

En un segundo bloque, se regulan las condiciones de depósito, almacenamiento y conservación de la materia biológica, cuando sean necesarias para la conservación de sus propiedades biológicas, de acuerdo con el **Tratado de Budapest** de fecha 28 de abril de 1977 y cuando no sea accesible al público o sea necesario como complemento de la descripción, cuando no pueda ser descrita en la solicitud de patente de manera que un experto pueda reproducir la invención.

Entre otros requisitos, la materia biológica deberá ser depositada en una institución reconocida para ello conforme a los Convenios Internacionales sobre esta materia en España, como son el Banco Nacional de Algas (BNA) y Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). El acceso a la materia biológica depositada se realizará mediante la entrega de una muestra de la misma a la persona que lo solicita, que quedará obligada a cumplimentar determinados compromisos de confidencialidad.

Un tercer bloque de previsiones contempla el alcance de la protección de la patente teniendo en cuenta las especiales características de la materia biológica, que es la que contiene información genética autorreproducible o reproducible en un sistema biológico.

Para que la protección sea real debe comprender el material obtenido por reproducción biológica a partir del patentado, así como los productos en los que se contenga y ejerza su función la información genética. Este régimen general tiene una excepción en los derechos del agricultor que adquiera del titular de la patente, o con su consentimiento, material de reproducción vegetal o animal que incorpore la invención protegida con fines de explotación agrícola (Cubero, 2008). En este caso, el agricultor podrá utilizar el producto de su cosecha para ulterior reproducción y multiplicación realizada en su propia explotación. Asimismo, el titular de la patente ha de autorizar al agricultor a utilizar el ganado protegido con fines agrícolas, incluyendo la puesta a disposición del ganado o de otro material de reproducción animal, para que el agricultor pueda proseguir su actividad agrícola (Sánchez Gil, 2008).

Junto a ello se prevé el “*agotamiento comunitario*” de los derechos del titular de una patente, que no podrá ejercerlos una vez puesto el producto en el mercado en el territorio de la Unión Europea por él mismo o con su consentimiento.

Finalmente, se recoge un último bloque regulatorio que integra un nuevo supuesto de licencias obligatorias por dependencia entre titulares de patentes de invenciones biotecnológicas y titulares de derechos de obtención vegetal. Tanto unos como otros deben conceder la licencia obligatoria cuando la variedad o la invención posterior supongan, respecto de la anterior, un progreso técnico significativo, de considerable importancia económica.

Requisitos de patentabilidad de invenciones biotecnológicas

Como ya se ha anticipado, las invenciones biotecnológicas, a pesar de referirse a organismos vivos, son patentables siempre que reúnan los requisitos de patentabilidad, aun cuando tengan por objeto un producto que esté compuesto o que contenga materia biológica, o un procedimiento mediante el cual se produzca, transforme o utilice materia biológica.

Dichos requisitos de patentabilidad son:

- **La novedad**, que se refiere a que la invención no debe haberse hecho pública de ninguna manera, antes de la fecha de presentación de la solicitud de patente.
- **La actividad inventiva**, que implica que al compararla con lo conocido, no resulte obvia para un experto en la materia.
- **La aplicabilidad industrial**, que implica que dicha invención pueda ser fabricada o utilizada por cualquier tipo de industria, incluida la agrícola.
- **La suficiencia descriptiva**, que implica que la invención debe ser descrita de manera suficientemente clara y completa, para que un experto en la materia pueda ejecutarla.

En función del objeto de la invención, se podrían clasificar las patentes en tres grandes grupos:

- **Patentes de Producto**, que son las relativas a organismos y los productos producidos por los mismos. El concepto de producto en biotecnología, difiere fundamentalmente del producto químico-farmacéutico, por el mero hecho de que el producto

Biocecnol3gico puede ser autorreplicable o replicable en un organismo hu3sped. Este hecho conlleva que la protecci3n sea extensible a las futuras generaciones, siempre que 3stas mantengan la misma informaci3n gen3tica necesaria.

- **Patentes de Procedimiento**, que son las relativas a la obtenci3n de organismos vivos o sus partes y producci3n del material biol3gico. Su protecci3n se amplía tambi3n al producto obtenido por el mismo.
- **Patentes de Uso**, que son las relativas a la utilizaci3n del propio organismo vivo o material biol3gico.

Adicionalmente, cabe destacar, que aunque ya han transcurrido m3s de 10 a3os desde la publicaci3n de la Directiva 98/44/CE, la regulaci3n de las patentes biocecnol3gicas sigue originando problemas, muchos de los cuales se refieren al 3mbito de protecci3n que confiere la patente biocecnol3gica, as3 como a la dificultad t3cnica que rodea a este tipo de invenciones.

3.3.3. Las Variedades Vegetales

El enorme progreso experimentado en la productividad agr3cola durante los 3ltimos a3os, se debe en gran parte a la creaci3n de nuevas variedades mejoradas, aumentando as3 la capacidad de explotar comercialmente los cultivos.

Este proceso de fitomejoramiento es largo y costoso, sin embargo, reproducir una variedad resulta bastante f3cil y r3pido. Por lo tanto, es importante proteger todas estas variedades mejoradas con el fin de evitar la Biopiratería, y alentar as3 el desarrollo de

nuevas variedades en beneficio de la sociedad. La protección de los derechos de Propiedad Intelectual sobre las plantas, ha discurrido a lo largo de la historia por un camino distinto al de las patentes.

En Estados Unidos, la Ley de Patentes Vegetales de 1930, permitía proteger mediante el sistema de patentes aquellas plantas que se propagaran de forma asexual, pero en Europa se consideró que esta figura era inapropiada para proteger nuevas variedades obtenidas mediante hibridación o selección. Debido a esto, los fitomejoradores idearon un sistema fundamentado en los Derechos relacionados con Variedades Vegetales.

Como se ha citado al comienzo de este capítulo y continuando con el análisis cronológico, en 1961 en París, surgió el sistema de la **Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV)**, cuya misión durante estos años ha sido y es proporcionar y fomentar un sistema eficaz para la protección de las variedades vegetales, con miras al desarrollo de nuevas variedades vegetales para beneficio de la sociedad. El **sistema UPOV** actualmente ha sido suscrito y ratificado por 68 Estados, y permite el reconocimiento en todo el mundo de los derechos de Propiedad Intelectual de los obtentores sobre sus variedades vegetales.

Unos años después, en 1994, se publica el **Reglamento 2100/94/CE**, relativo a la protección comunitaria de las obtenciones vegetales, complementado, entre otros, por el **Reglamento 1238/95/CE** de la Comisión, de 31 de mayo de 1995, en lo que respecta a las tasas que deben pagarse a la Oficina comunitaria de variedades vegetales y por el **Reglamento 1768/95/CE** de la Comisión, de 24 de julio de 1995, a través del que se adoptan normas de desarrollo de la exención agrícola contemplada en el apartado 3 del artículo 14 del Reglamento 2100/94/CE relativo a la protección comunitaria de las obtenciones vegetales.

Aunque España tenía su propia legislación sobre la protección de variedades vegetales -la Ley 12/1975, de 12 de marzo, de protección de las obtenciones vegetales- en el año 2000 España completó y adaptó su normativa nacional al marco europeo, mediante la **Ley 3/2000**, de 7 de enero, sobre la Protección de las Variedades Vegetales. Con esta Ley se reforzaron los derechos de los obtentores, tales como la necesidad de obtener autorización del obtentor para la producción, reproducción, oferta en venta, exportación-importación, etc., de la variedad vegetal protegida.

En la actualidad, tanto la ley española (Ley 3/2000) como el Reglamento comunitario (Reglamento 2100/94/CE), se ajustan completamente al Acta de 1991 del CUPOV, ya que ambas disposiciones (nacional y comunitaria) se aplican a todos los géneros y especies vegetales y contienen una regulación semejante en cuanto a la definición de variedad, de obtentor y causahabiente (Salaices, 2009).

Unos años más tarde, el 21 de octubre de 2005, se aprueba el **Real Decreto 1261/2005**, por el que se aprueba el Reglamento de protección de obtenciones vegetales. El objeto de este Reglamento es desarrollar la Ley 3/2000, relativa al régimen jurídico de la protección de las obtenciones vegetales y sentar las bases para el reconocimiento y protección del derecho de obtentor de una variedad vegetal nueva para el que se concederá un título de obtención vegetal como derecho de propiedad especial, con la extensión y los límites que se establecen en la citada Ley.

La Ley 3/2000 cubre un amplio abanico de aspectos legales relacionado con las variedades vegetales, por ello también regula la anteriormente citada “excepción del agricultor” o el “privilegio del agricultor”, por el cual se regula el derecho que asiste al agricultor de reservar semilla de su propia producción, para replantar la cosecha durante la campaña siguiente

según la cual los agricultores están autorizados a utilizar en sus fincas y para su uso propio una variedad protegida que no sea híbrida.

Con objeto de incentivar la investigación, también se amplió la duración de la protección para todas las especies vegetales, siendo en herbáceas 25 años y en leñosas y vid 30 años. Por último, se introdujo la posibilidad de poder comercializar en España las variedades vegetales antes de solicitar la protección, circunstancia que permite a los obtentores conocer, por un lado, los resultados prácticos y el valor productivo de dicha variedad antes de acometer unos gastos que, en el caso de variedades de resultados mediocres, no resultarían compensados, y por otro, la respuesta de los agricultores ante la oferta de las nuevas variedades antes de someterse al sistema de protección (Sánchez Gil, 2008).

Una variedad vegetal se define como un conjunto de plantas de un solo taxón botánico del rango más bajo conocido, que pueda:

- definirse por la expresión de los caracteres de un cierto genotipo,
- distinguirse de otro conjunto de plantas por la expresión de uno de dichos caracteres, y
- considerarse como una unidad, teniendo en cuenta su aptitud para propagarse sin alteración.

Requisitos de Protección de una Variedad Vegetal

Para que una variedad sea candidata a un título de obtención vegetal, deberá cumplir con los siguientes requisitos:

- **Novedad**, que implica que una variedad será considerada nueva si, en la fecha de presentación de la solicitud del título de obtención vegetal, el material de reproducción o de multiplicación vegetativa o un producto de cosecha de la variedad no ha sido vendido

-
- o entregado a terceros por el obtentor o con su consentimiento para la explotación de la variedad o, habiéndolo sido, no han transcurrido los siguientes plazos:
- a) Un año, si la venta o entrega se realizó en España.
 - b) Cuatro años, si la venta o entrega se realizó fuera de España y su objeto no fueron árboles o vides.
 - c) Seis años, si la venta o entrega se realizó fuera de España y su objeto fueron árboles o vides.
- **Distinción**, que implica que una variedad será considerada distinta si es posible diferenciarla claramente por la expresión de las características resultantes de un genotipo en particular o de una combinación de genotipos, de cualquier otra variedad cuya existencia, en la fecha de presentación de la solicitud, sea notoriamente conocida.
 - **Estabilidad**, que implica que una variedad se considerará estable, si sus caracteres específicos se mantienen inalterados después de reproducciones o multiplicaciones sucesivas o, en caso de un ciclo particular de reproducciones o de multiplicaciones, al final de cada ciclo.
 - **Homogeneidad**, que implica que una variedad se considerará homogénea, si es suficientemente uniforme en sus caracteres específicos, con la reserva de las variaciones previsibles debidas a su reproducción sexuada o a su multiplicación vegetativa.

Haciendo una breve reseña a las diferentes vías de protección de una variedad vegetal, se puede hablar de una protección nacional, cuando se quiere proteger una variedad vegetal en un determinado país, debido a que su comercialización, por ejemplo, se vea favorecida. El organismo encargado de conceder el Título Nacional en España, es La Oficina Española de Variedades Vegetales, perteneciente al Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y

Marino. Por otra parte, como se ha citado en líneas anteriores, existe una vía de Protección Comunitaria desde el 27 abril 1995, regulada por el **Reglamento 2100/1994/CE**. Antes, cuando alguien quería proteger una variedad en la totalidad del territorio de la Unión Europea, se debía presentar una solicitud distinta en cada uno de los Estados miembros. Desde la introducción del nuevo régimen comunitario de protección, basta con que el interesado presente una sola solicitud para conseguir la protección de esa variedad en la totalidad del territorio de la UE.

Las funciones de concesión Comunitaria las atribuye la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales situada en Angers, Francia, o bien a través del depósito de la solicitud en la Oficina Española de Variedades Vegetales, situada en Madrid. Dicha solicitud puede presentarse en uno de los idiomas oficiales de la Comunidad Europea, directamente en la Oficina o en una de las agencias nacionales de un Estado Miembro, quien adoptará todas las diligencias necesarias para remitirla a la Oficina encargada.

El Reglamento Comunitario 2100/94/CE, prohíbe expresamente la doble titularidad de derechos, nacional y comunitario, pero siempre se puede convertir una solicitud nacional en comunitaria y viceversa.

La protección de una variedad vegetal confiere al titular de la misma el derecho exclusivo a:

- la producción o la reproducción de la misma,
- el acondicionamiento a los fines de la reproducción o de la multiplicación,
- la oferta en venta,
- la venta o cualquier otra forma de comercialización,
- la exportación,

-
- la importación, y
 - la posesión para cualquiera de los fines anteriormente mencionados.

El titular de una obtención cuyo derecho ha sido lesionado podrá solicitar:

- la cesación de los actos que violen su derecho.
- la indemnización de los daños y perjuicios sufridos (no sólo lo que ha perdido, sino lo que ha dejado de ganar).
- el embargo de los objetos producidos o importados y de los medios exclusivamente destinados a tal producción o a la realización del procedimiento patentado.
- la atribución en propiedad de los objetos o medios embargados (se imputa el valor de éstos al importe de daños y perjuicios; si el valor de los productos embargados es mayor que la indemnización, el titular de la patente deberá compensar al infractor).
- adopción de medidas necesarias para evitar que prosiga la violación de la patente (incluida la destrucción).
- la publicación de la sentencia condenatoria del infractor de la patente.

Se considerará nula la concesión del derecho que confiere un Título de Obtención Vegetal cuando la variedad vegetal no cumpla con las condiciones exigidas internacionalmente, a saber: Novedad, Distinción, Estabilidad y Homogeneidad; así como cuando el título haya sido concedido a una persona que no tenga derecho al mismo.

El derecho de Obtentor se puede extinguir porque expire el plazo por el que fue concedido dicho título, por renuncia del titular, por causas que provoquen la pérdida de las propiedades esenciales de la variedad vegetal, recogidas en las condiciones de homogeneidad y estabilidad, o por no pagar las tasas correspondientes. Una vez se extingue el derecho de obtentor, la

variedad pasa a ser de dominio público, es decir que cualquier tercero podrá utilizarla sin necesidad de solicitar una licencia de explotación al titular de la misma.

En la tabla 3.3 se presenta un breve esquema de la normativa internacional que aplica a la protección jurídica de la propiedad industrial, en particular a las patentes biotecnológicas y a los derechos de obtentor.

Tabla 3.3 Normativa supranacional específica vigente sobre la protección jurídica de la propiedad industrial

Ámbito de aplicación	Normativa	Principales elementos
Acuerdos Internacionales de Patentes y de Variedades Vegetales		
Acuerdo sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio	ADPIC o TRIPS	El Acuerdo sobre los ADPIC o TRIPS abarca todas las formas de propiedad intelectual y se propone armonizar, reforzar y garantizar la aplicación eficaz de las normas de protección en los ámbitos nacional e internacional.
Depósito de Microorganismos para patentes biotecnológicas	Tratado de Budapest	Establece los requisitos para el reconocimiento internacional del depósito de microorganismos a los fines del procedimiento en materia de patentes.
Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales	Convenio UPOV	Su misión es proporcionar y fomentar un sistema eficaz para la protección de las variedades vegetales, con miras al desarrollo de nuevas variedades vegetales para beneficio de la sociedad. Permite el reconocimiento en todo el mundo los derechos de Propiedad Intelectual de los obtentores sobre sus variedades vegetales.
Normativa Europea de Patentes Biotecnológicas		
Protección jurídica de las invenciones biotecnológicas	Directiva 98/44/CE EPC	Establece la regulación relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas, que permite patentar organismos vivos, siempre que reúnan los requisitos de patentabilidad, aun cuando tengan por objeto un producto que esté compuesto o que contenga materia biológica, o un procedimiento mediante el cual se produzca, transforme o utilice materia biológica.
Normativa Europea de Variedades Vegetales		
Protección Comunitaria de Obtenciones Vegetales	Reglamento 2100/94/CE	Establece los requisitos para la protección comunitaria de las obtenciones vegetales.

Autorización de Variedades Vegetales Comerciales

Según Martín Fernández de Gorostiza (2000 y 2001), los trabajos de inscripción de una variedad en el Registro de Variedades Comerciales, llevan consigo estudios sobre la identificación o definición de la variedad y sobre el valor agronómico de la misma, que con una duración de dos o tres años de media para su comprobación, terminan con la presentación de un dossier a la Comisión Nacional de Estimación, con representación de varios sectores interesados como Administración, sectores privados y organizaciones de agricultores (figura 3. 3).

Según la Orden de 23 de marzo de 1998, en el caso de variedades derivadas de organismos modificados genéticamente ya autorizados, se establece la obligación de presentar un Plan de seguimiento, para cada una de las variedades inscritas, que debe cumplir una serie de requisitos recogidos en dichas Ordenes. Este Plan permite estudiar el comportamiento de la modificación genética incorporada a la variedad y vigilar los efectos de la modificación sobre la propia planta, el suelo, la alimentación animal o los cultivos convencionales con los que conviva, así como reaccionar frente a consecuencias adversas o inesperadas. Este Plan de seguimiento deberá contemplar, al menos, los siguientes aspectos:

- Fecha de inicio y duración de la misma.
- Suministro al Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, de la información que le sea requerida y, en especial, todo lo referente a la distribución y venta de semillas de estas variedades.
- Establecimiento de un plan de prevención para el caso que pudiera derivarse algún problema para la salud humana o el medio ambiente.
- Acciones a tomar en caso de que el citado plan de prevención no surtiera efecto.
- En cuanto al etiquetado oficial de los envases que contengan semillas de variedades modificadas genéticamente, además de la información requerida por el Reglamento

General Técnico de Control y Certificación de Semillas y Plantas de Vivero, deberá figurar la inscripción siguiente: “variedad modificada genéticamente”.

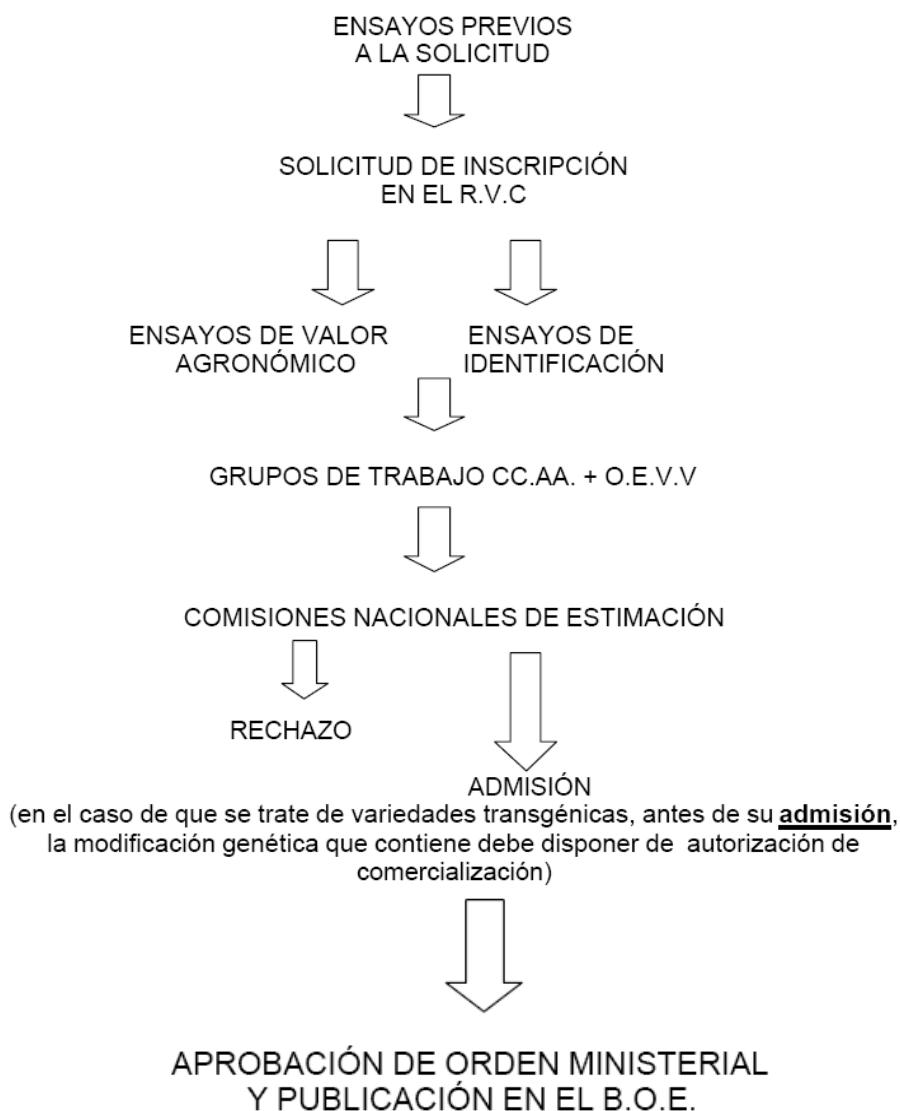


Figura 3.3 Esquema de inscripción de variedades convencionales y transgénicas en el Registro de Variedades Comerciales.

Fuente: MAPA, 2004.

Asimismo, en los catálogos de ventas y en los envases de semillas, se indicará claramente que la variedad es un OMG, haciendo referencia al tipo de modificación introducida.

3.3.4. Autoridades relacionadas con la protección jurídica de la propiedad industrial

Otro paso importante y novedoso en la regulación de los diversos aspectos de la Agrobiotecnología a tener en cuenta es la Ley 10/2002, de 29 de abril, por la que se modifica la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes, para la incorporación al Derecho español de la Directiva 98/44/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de julio, relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas (BOE núm. 103, de 30.04.2002). Así se prohíbe la patente del cuerpo humano y de variedades vegetales y razas animales, contribuyendo a la armonización internacional, en pleno respeto a las nuevas exigencias éticas. En este sentido la **Oficina Europea de Patentes** (OEP) representa al órgano europeo en materia de evaluación, tramitación y concesión de este tipo de patentes biotecnológicas.

La **Oficina Europea de Patentes** es el organismo encargado de la aplicación administrativa del Convenio sobre la Patente Europea también llamado Convenio de Munich, firmado en 1973, también llamado EPC. Gracias a este tratado internacional, mediante un único procedimiento se pueden conseguir patentes nacionales en todos los países firmantes, mediante un proceso de concesión única y un sistema de validaciones nacionales de dicha concesión. La OEP tiene su sede en Munich, y delegaciones en La Haya, Berlín y Viena (EPC, 1973).

Entre las patentes evaluadas y concedidas por la OEP, las patentes biotecnológicas son de las más interesantes, por el contenido y el ámbito de protección que se le adjudica a este tipo de solicitudes, ya que protegen material biológico.

En relación directa con la OEP está la **Oficina Española de Patentes y Marcas** (OEPM) es un organismo autónomo dependiente del Ministerio de Industria, Turismo y Comercio que realiza las funciones de recepción, estudio y concesión de las diferentes modalidades de propiedad industrial que se conceden en España, salvo las variedades vegetales y denominaciones de origen.

Otro de los organismos institucionales importantes en Agrobiotecnología es la **Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales** (CPVO) que es un organismo comunitario autofinanciado con personalidad jurídica propia que inició su actividad el 27 de abril de 1995 y que desde agosto de 1997 tiene su sede en Angers (Francia). Su función principal es la de tomar las decisiones relativas a las solicitudes de protección comunitaria de obtenciones vegetales a partir del examen formal y técnico de la variedad cuya protección se solicita. La protección comunitaria de las obtenciones vegetales es válida durante 25 o 30 años, dependiendo de la especie vegetal de que se trate. La protección es válida en los todos los Estados miembros de la UE.

Su homólogo español, es la **Oficina Española de Variedades Vegetales** (OEVV) que es un organismo institucional perteneciente al Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, que tiene encomendadas diversas materias que forman en su conjunto un solo cuerpo legislativo, regulando en primer lugar, todo lo relacionado con la obtención, caracterización y evaluación de las variedades vegetales, y su inclusión en el Registro de Variedades (Comerciales y Protegidas). Esta interconexión entre ambos Registros de Variedades conforma un sistema por el que se reconocen derechos de propiedad y

permisos de comercio y se armonizan los derechos de los obtentores, los productores, los agricultores y los consumidores. Otra de sus funciones es el control de la producción y comercialización de las semillas y plantas de vivero y así como la conservación y utilización sostenibles de los recursos fitogenéticos para la agricultura y la alimentación, que incluye el material genético de variedades ya abandonadas, susceptibles de ser utilizadas en la obtención de nuevas variedades.

3.3.5. Diferencias regulatorias entre la UE y los EEUU

Como se ha comentado anteriormente, la regulación de los OMGs en el mundo no es uniforme, sino que cada país ha desarrollado un marco regulatorio diferenciado donde los EEUU y la UE representan los puntos extremos. Estas diferencias se basan en la concepción del riesgo, la evaluación de la tecnología (en los EEUU) frente al producto (en la UE) y en los distintos organismos encargados de su regulación y la comunicación entre ellos.

Estas aproximaciones, contrapuestas a la nueva Biotecnología, fueron estudiadas en detalle por Alcalde (2009) en su estudio sobre el maíz Bt, donde se refleja que en los EEUU siguiendo el consejo científico de su Academia de Ciencias no se considera que la moderna biotecnología presenta más riesgos intrínsecos que otras tecnologías “convencionales” de modificación genética (National Research Council, 2004) y no existe una normativa específica para los OMGs, lo cual no significa que no se evalúe su riesgo sino que están sometidos a las mismas exigencias que el resto de productos. Por el contrario en la UE todas las actividades con OMGs, desde su experimentación en laboratorio hasta su cultivo y consumo están sujetas a normativas específicas.

Las consecuencias de la aproximación tomada por los EEUU para los alimentos derivados de la biotecnología es que sólo si contienen aditivos alimentarios o pesticidas, deben ser autorizados antes de su comercialización, como cualquier otro aditivo o plaguicida, por la FDA o la EPA. El hecho de que una planta se ha desarrollado utilizando técnicas de ADN recombinante no es en sí misma una condición que requiera autorización previa a su comercialización y hasta ahora todos los OMGs que no contienen sustancias plaguicidas han sido considerados como GRAS, clasificación que señala a aquellos alimentos Generalmente Reconocidos como Seguros y que no necesitan autorización previa (Paoletta *et al.*, 2008).

Además, en los EEUU, el etiquetado se rige por el principio general de que los productos obtenidos mediante modificación genética no son distintos de los convencionales sino que son “sustancialmente equivalentes” (según el concepto acuñado por la OCDE y la OMS) y la FDA sólo requiere un etiquetado específico para los OMG cuando el producto supone algún riesgo (posible presencia de alérgenos) o si sus características nutricionales son significativamente distintas de su equivalente convencional, debiendo entonces indicarse la diferencia.

Este autor (Alcalde, 2009) considera que un buen indicador sobre la eficiencia de los sistemas de autorización de la UE y de los EEUU es la comparación entre el número de eventos autorizados hasta el momento por ambos sistemas, siendo este número significativamente inferior en la UE que en los EEUU debido a que el sistema europeo de autorizaciones es mucho más lento, lo que supone un retraso en el desarrollo de la tecnología dentro de la UE y dificulta el comercio internacional.

Respecto a las patentes, también encontramos diferencias entre las aproximaciones que han hecho los EEUU y la UE. En el derecho norteamericano de patentes el término

“patente” tiene un alcance ligeramente distinto que en Europa, aunque básicamente tienen que cumplir los mismos requisitos de novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial.

La patente, en sí misma, es una concesión otorgada por los gobiernos nacionales al inventor, por la que éste adquiere el derecho civil durante un tiempo limitado (normalmente de 20 años) de excluir a otros de explotar (hacer, usar o vender) lo que se reivindica en dicha patente. Como contrapartida, el propietario está obligado a revelar los detalles de su invención (descripción escrita, esquemas, depósito de material, etc.) de forma que cualquier experto en la materia pueda ser capaz de obtener los mismos resultados. La patente no faculta a su propietario a la explotación comercial, quedando este aspecto regulado por las normativas correspondientes y por las correspondientes autorizaciones administrativas. El objetivo final que se alcanza con una patente es el de compensar el esfuerzo invertido por el inventor, estimulando así el avance de la innovación científica y tecnológica, beneficiando a toda la sociedad, por ejemplo, en importantes mejoras en las áreas de la salud humana y animal.

Sin embargo, aunque conceptualmente parece que una patente debe ser interpretada del mismo modo en un mundo global, hay algunos aspectos que contienen matices diferentes que se centran fundamentalmente en la interpretación del requisito de “novedad” que aunque se consideran parejos en los EEUU y en la UE, para su distinción se deben tenerse en cuenta dos criterios básicos que priman en la práctica americana. El sistema americano se basa en el *“first to invent”* y no en el *“first to file”* característico de Europa, es decir, el derecho a la patente se otorga al primero que inventa y no al primero que presenta la solicitud ante la oficina de patentes. Además, el sistema americano establece el período de gracia de un año, según el cual el inventor puede divulgar su invención durante el año anterior a la fecha de presentación de la misma.

También existe una diferencia entre la concepción de los términos “invención” y “descubrimiento”; entendiéndose que una invención es todo aquello que resulta del ingenio humano cuando se aplica a resolver un problema técnico concreto o a satisfacer una necesidad práctica. Sin embargo, la frontera entre ambos conceptos en los EEUU es muy difusa en el ámbito de la Agrobiotecnología, a diferencia que Europa, en donde el “descubrimiento” se considera algo accidental y por lo tanto no patentable.

Una de las consecuencias de este diferente enfoque es que en los Estados Unidos es posible patentar variedades vegetales tanto si éstas son plantas propagadas asexualmente, como si son plantas modificadas genéticamente, en contraposición a la práctica europea, en donde se considera que el derecho de patentes no es adecuado para proteger nuevas variedades de plantas desarrolladas por métodos tradicionales de cultivo, existiendo normas específicas para su protección -como el Convenio internacional UPOV-. A fin de evitar una confusión jurídica, el derecho de patentes europeo excluyó, en consecuencia, la patentabilidad de las variedades vegetales.

4. OBJETIVOS, PLAN DE TRABAJO Y METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

4.1. OBJETIVOS

De acuerdo con lo expuesto en los capítulos anteriores, una de las áreas en las que Biotecnología está teniendo un impacto importante en la salud humana es la obtención de compuestos biofarmacéuticos. Y de la comparación de aspectos técnicos de los diferentes sistemas de expresión (plantas, levaduras, bacterias y sistemas animales) para la obtención de sustancias terapéuticas y compuestos de interés biológicamente más activos, en mayor cantidad, de forma más segura y con el coste más bajo posible, consideramos que las plantas son un sistema ideal debido a que la mayoría de los genes, de cualquier origen, se pueden expresar en sistemas heterólogos, como es el caso de los vegetales.

En este sentido, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo general:

Estudio científico, tecnológico y social de la producción de vacunas comestibles a partir de plantas modificadas genéticamente.

Para alcanzar este objetivo principal se han planteado los siguientes objetivos parciales:

- Estudio de las plantas como biofactorías para la obtención de vacunas comestibles.
- Valoración de los aspectos científicos de las vacunas comestibles como modelo de vacunación.
- Estudio de los aspectos regulatorios relativos a las vacunas comestibles.
- Análisis de los aspectos socioeconómicos del desarrollo y utilización de las vacunas comestibles.

4.2. PLAN DE TRABAJO

Para el cumplimiento de este objetivo general se ha seguido el siguiente plan de trabajo:

- El estudio de las plantas como biofactorías y de los conceptos *Molecular Farming* y *Molecular Pharming*.
- Revisión histórica y evolución de las vacunas comestibles.
- Revisión de los aspectos científicos de las vacunas comestibles como modelo de vacunación.
- Análisis de los aspectos regulatorios relativos a vacunas comestibles.
- Evaluación de las connotaciones sociales y económicas de este método de vacunación.

A continuación se explican los estudios realizados para dar cumplimiento a los objetivos planteados y se han materializado en los capítulos quinto a noveno.

En primer lugar (capítulo quinto) se estudian las plantas como biofactorías introduciendo los conceptos “*Molecular Farming*” y “*Molecular Pharming*” revisando las distintas técnicas de producción de compuestos biofarmacéuticos en plantas. A continuación, se describen los compuestos de mayor interés (con y sin carácter inmunológico) y se indican las estrategias más adecuadas para aumentar sus niveles de expresión.

El capítulo sexto se centra en la aplicación concreta de las plantas como biofactorías para la obtención de vacunas comestibles, estudiando las técnicas utilizadas, el concepto de vacuna comestible y haciendo una profunda revisión de su historia y evolución.

Los siguientes capítulos (del séptimo al noveno) están directamente relacionados con los capítulos primero y segundo de la parte general. Así, en el capítulo séptimo se estudian los aspectos científicos de las vacunas comestibles como modelo de vacunación, revisando cuales son los sistemas de expresión en plantas, su problemática específica y las estrategias concretas para aumentar los niveles de expresión. Para valorar la realidad de estos desarrollos, en éste capítulo también se recogen cuales son las vacunas comestibles en fase de investigación y los aspectos relacionados con su bioseguridad.

Dado que el marco regulatorio europeo actual (según se refleja en el capítulo tercero) gobierna aspectos de diversa índole relacionados con la Biotecnología moderna y que pueden aplicarse a las vacunas comestibles, en el capítulo octavo se hace un estudio práctico de la aplicación de la legislación existente a las vacunas comestibles desde el punto de vista de las modificaciones genéticas y como nuevos alimentos, así como de los aspectos relativos a su protección jurídica.

Por último, en el capítulo noveno se estudian los aspectos socioeconómicos de este modelo de vacunación, analizando los aspectos socio-políticos, los aspectos económicos e industriales, y la aceptación social de las vacunas comestibles como productos agrobiotecnológicos (alimentos versus medicamento).

Finalmente, en el capítulo décimo se recogen las conclusiones y una breve reflexión final obtenidas en este trabajo de investigación.

4.3. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

Para la realización del presente trabajo además de los artículos y libros mencionados en el capítulo de bibliografía se ha consultado las siguientes fuentes:

BASES DE DATOS Y PUBLICACIONES CIENTÍFICAS:

Para la realización de la presente tesis se han consultado múltiples bases de datos (FSTA, Current Contents, Medline, Medline Plus, Academia Research Library, entre otras) empleando varios buscadores científicos (tabla 4.1).

Tabla 4.1 Buscadores científicos		
Buscador	Descripción	Enlace
WOK	ISI Web of Knowledge Buscador privado proporcionado por la FECYT	www.accesowok.fecyt.es
Sárus	Buscador público de publicaciones científicas	www.sarus.com
Science Direct	Base de datos privada de publicaciones científicas	www.sciencedirect.com
Springer	Base de datos privada de publicaciones científicas	www.springerlink.com
BPC	Biblioteca Cochrane Plus Buscador público de publicaciones científicas proporcionado por el MSPS	http://www.update- software.com/dibplus/dibplus.asp
Novoseek	Buscador público proporcionado por Bioalma	www.novoseek.com
Pub-Med	Base de datos pública de publicaciones científicas	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/
La Cochrane	Base de datos pública de publicaciones científicas	http://www.update-software.com/BCP/

Con independencia de la información obtenida a través de las mencionadas Bases de Datos, se han consultado (entre otras) las siguientes revistas (desde el año 1989 hasta el año 2010): Medical Abstracts, Nutrition Abstracts, Biological Abstract, FROST, Cultura Biotec, Trends in Biotechnology, Scientific American, Nature Reviews, Current Opinion in Biotechnology, Vaccine, Journal of Integrative Biology, Trends in Molecular Medicine, PNAS, Biotechnology and Bioengineering, Nature Biotechnology, Mucosal Immunology Update, Science & Medicine, Phytochemistry, Advances in Experimental Medicine and Biology, Transgenic Research, Trends in Plant Science, Molecular Breeding, Plant Cell Reports, Biotechnology Progress, International Reviews of Immunology, Enzyme and Microbial Technology, Journal of Cell Biology y FASEB Journal.

INFORMES TÉCNICOS:

Los informes técnicos más relevantes consultados para la elaboración de la presente tesis son los siguientes:

ASEBIO

Informes ASEBIO 2001-2007.

Centro de Derecho Ambiental de la UICN

Organismos Genéticamente Modificados y Bioseguridad. Unión Mundial para la Naturaleza, 2004.

Comisión Europea

Questions and Answers about GMOs in seeds. MEM0/03/186. Brussels, 2003.

CONSORCIO PHARMA-PLANTA

Informes 2005-2008.

FAO

FAO/WHO (1996). Biotechnology and food safety. Report of a joint FAO/WHO Consultation, Rome, Italy, 1996. FAO Food and Nutrition Paper n° 61.

Las negociaciones comerciales multilaterales sobre la agricultura. Manual de referencia. Roma, 2000.

Los OMG, los consumidores, la inocuidad de los alimentos y el medio ambiente, FAO. Roma, 2001.

Glosario de biotecnología para la agricultura y la alimentación. Zaid, A. Hughes H.G., Porceddu E, Nicholas F. Estudio FAO Investigación y Tecnología 9. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 2004.

Tendencias internacionales en la protección de la variedad vegetal, 2005.

El estado mundial de la agricultura y la alimentación, 2007.

Perspectivas de cosechas y situación alimentaria, 2009.

Evaluación de la inocuidad de los alimentos genéticamente modificados, 2009.

FDA

The Guide at a Glance, The Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables. S. Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition, 1998-2004.

Federación Europea de Biotecnología

Grupo de Estudio sobre la percepción de la biotecnología: “Biotecnología en alimentos y bebidas”. Boletín 2, 1994.

Fundación Genoma España

Impacto de la Biotecnología en el Sector Sanitario, 2003.

Avance del Estudio Estratégico de la Biotecnología en España: Descripción e Indicadores, 2004.

Impacto de la Biotecnología en los Sectores Agrícola, Ganadero y Forestal, 2004.

Vacunas humanas de nueva generación, 2004.

Genoma y Medicina, 2004.

Biotecnología en el Sector Alimentario, 2005.

Genotipado en la salud humana, 2005.

Aplicaciones de la Biotecnología en Seguridad Alimentaria, 2005.

Biotecnología aplicada a la identificación y validación de dianas terapéuticas, 2005.

Plantas biofactoría, 2005.

Relevancia de la Biotecnología en España, 2007 y 2009.

Anticuerpos monoclonales, 2007.

Fundació Víctor Grifols i Lucas

Percepción social de la biotecnología. Seminario sobre la percepción de la biotecnología. Barcelona. Centre de Referència en Biotecnologia de la Generalitat de Catalunya., 2001

Institute of Food Technologists (IFT)

IFT expert report on biotechnology and foods.124-136, 2000.

Institute for Prospective Technological Studies (IPTS)

Consequences, Opportunities and Challenges of Modern Biotechnology for Europe, 2007.

Plant Molecular Farming. Opportunities and Challenges. Spök A., Karner S., 2008.

ISAAA

Clive James. Preview: Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2003-2010. ISAAA Briefs Vol.30, 2003-2010.

National Research Council

Safety of Genetically Engineered Foods: Approaches to Assessing Unintended Health Effects. (Washington: National Academies Press), 2004.

Observatorio Europeo de Ciencia y Tecnología

Review of GMOs under Research and Development and in the Pipeline in Europe, 2003.

Observatorio de Prospectiva Tecnológica (OPTI)

Segundo Informe de Prospectiva Tecnológica Industrial, Madrid, 2000.

OMS

20 preguntas sobre los alimentos genéticamente modificados (GM), 2003.

Biología moderna de los alimentos, salud y desarrollo humano: estudio basado en evidencias, 2005.

Vacunas e inmunización: Situación mundial, 2009.

OCDE

Safety Considerations for Biotechnology: Scale-up of Crop Plants. Paris, 1993.

A Framework for Biotechnology Statistics. Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos, 2005.

SEBIOT

Biología y Salud: preguntas y respuestas. Biología en pocas palabras, 2000.

Plantas transgénicas: preguntas y respuestas. Biología en pocas palabras, 2000.

Biología y alimentos: preguntas y respuestas. Biología en pocas palabras, 2001.

University of Georgia

UGA Crop & Soil Science: Defining the Green Revolution, Walt Parks, 2003.

BASES DE DATOS DE PATENTES:

Cada día es mayor la información que sobre Propiedad Industrial que puede consultarse a través de herramientas de Internet. Esta información incluye desde aspectos legales, de forma que se pueden obtener los textos completos de los Convenios, Tratados y Leyes Nacionales de Propiedad Industrial así como bases de datos. En estas bases de datos se encuentra todo el fondo documental completo que manejan las distintas Oficinas de Patentes (más de treinta millones de documentos) en materia de propiedad industrial con información técnica, jurídica, tecnológica y en algunos casos incluso comercial.

La información sobre los documentos de patentes se encuentra en distintos formatos según la antigüedad del documento: información bibliográfica y textos completos escaneados para documentos posteriores a 1970; para documentos entre 1970-1920 se tienen sólo algunos resúmenes pero se ofrece para todos ellos la información en papel previa petición de la misma por fax y para documentos anteriores a 1920 únicamente se pueden consultar datos bibliográficos. Para la realización de la presente tesis se han consultado múltiples bases de datos especializadas en patentes empleando varios buscadores tanto públicos como privados (tabla 4.2).

Tabla 4.2 Buscadores y bases de datos de patentes

Buscador	Descripción	Enlace
Derwent Innovations Index	Forma parte del ISI Web of Knowledge Buscador privado proporcionado por la FECYT	www.accesowok.fecyt.es
Sárus	Buscador público de patentes	www.sarus.com
Free Patents online	Buscador público de patentes	www.freepatentsonline.com
Patent Storm	Buscador público de patentes americanas	www.patentstorm.us
IBM Delphion	Buscador privado proporcionado por la empresa IBM	www.delphion.com
OEPM Cibepatnet	Base de datos pública de patentes españolas Proporcionado por la Oficina Española de Patentes y Marcas	www.oepm.es
EPO Sp@cenet	Base de datos pública de patentes a nivel internacional Proporcionado por la Oficina Europea de Patentes	http://ep.espacenet.com
DPMA	Base de datos pública de patentes a nivel internacional Proporcionado por la Oficina Alemana de Patentes y Marcas	www.depatistnet.de
USPTO	Base de datos pública de patentes americanas Proporcionado por la Oficina Americana de Patentes y Marcas	www.uspto.gov
JPO	Base de datos pública de patentes japonesas Proporcionado por la Oficina Japonesa de Patentes	www.ipa.go.jp
OMPI	Base de datos pública de solicitudes PCT Proporcionado por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual	www.wipo.int

5. PLANTAS COMO BIOFACTORÍAS

5.1. CONCEPTOS MOLECULAR FARMING Y MOLECULAR PHARMING

Como se ha comentado anteriormente, aparte de la mejora de las características agronómicas y del aporte nutritivo, una de las aplicaciones de mayor relevancia en los últimos años es la modificación genética en plantas para su utilización como biofactorías vegetales (cultivos de plantas como pequeñas fábricas para la producción controlada de compuestos de interés) lo que se conoce internacionalmente como *Molecular Farming*. Por ello, la tercera generación de cultivos transgénicos, fundamentalmente se centra en la modificación genética vegetal con el fin de alterar ciertas rutas metabólicas y así producir compuestos de interés (por ejemplo, aceite con una determinada proporción de ácidos grasos) o bien en introducir genes que expresan productos que nada tienen que ver con el metabolismo vegetal (por ejemplo, anticuerpos humanos).

Sin embargo, cuando los compuestos de interés son sustancias biofarmacéuticas, los expertos adoptan un término ligeramente distinto, convirtiendo la acepción genérica “*Farming*” en el término específico “*Pharming*”. Por ello, en los últimos años, la expresión de compuestos con interés farmacéutico en plantas modificadas genéticamente se conoce en términos anglosajones como *Biopharming* ó *Molecular Pharming* (Daniell, 2001). Actualmente, esta tecnología se encuentra en fase muy avanzada y se espera que las sustancias obtenidas, denominadas *PMPs* (*Plant-Made Pharmaceuticals*), se comercialicen en un futuro muy próximo de forma tan habitual como las obtenidas a partir de otros sistemas.

De forma generalizada, las sustancias con interés farmacéutico obtenidas por técnicas de *Molecular Pharming* son fundamentalmente proteínas (enzimas, hormonas, antígenos,

anticuerpos, etc.), ya que su producción mediante ingeniería genética es más sencilla que para otro tipo de compuestos.

La parte de la planta inicialmente utilizada como acumulador de compuestos con interés farmacéutico es la semilla, debido a que es una excelente acumuladora natural de proteínas en altas concentraciones, y además facilita en gran medida el proceso de transporte desde las instalaciones de procesamiento. Actualmente, se utilizan otro tipo de partes de la planta como las hojas, como en el caso del tabaco o de la alfalfa, los tubérculos en el caso de la patata y los frutos en el caso de los tomates o las bananas.

En los últimos 20 años se han desarrollado diversos sistemas de expresión, como pueden ser las bacterias y los hongos, pero estos sistemas presentan ciertas limitaciones ya que no son factibles para la obtención de proteínas que necesiten modificaciones postransduccionales.

Otro de los sistemas ampliamente utilizado, es el cultivo de células animales modificadas con técnicas de ADN recombinante para producir compuestos de interés terapéutico idénticos a los naturales. Sin embargo, el cultivo de estas células a escala industrial es en muchas ocasiones muy costoso. En cualquier caso, las diferencias existentes entre los sistemas vegetales y los sistemas de cultivos celulares de mamíferos son mínimas en comparación con los que existen entre las células de mamíferos y los microorganismos, de ahí que las plantas puedan constituir una vía de elección con relación a los sistemas basados en células procariotas para la obtención de proteínas con propiedades terapéuticas. De hecho, según las aproximaciones de Twyman en 2003, los sistemas vegetales adquieren cada vez mayor importancia en la obtención de productos terapéuticos tal y como se indica en el esquema de la figura 5.1.

Los sistemas vegetales de expresión de proteínas terapéuticas tienen una ventaja adicional relacionada con la contaminación cruzada interespecie, por eso son una alternativa interesante para la producción de sustancias terapéuticas. En este sentido, cabe destacar que las plantas modificadas genéticamente no son hospedadores naturales de microorganismos patógenos ni para el hombre ni para los animales, de ahí que las contaminaciones se consideren menores de las que podrían darse si se utilizaran sistemas en microorganismos o en cultivos celulares de mamífero.

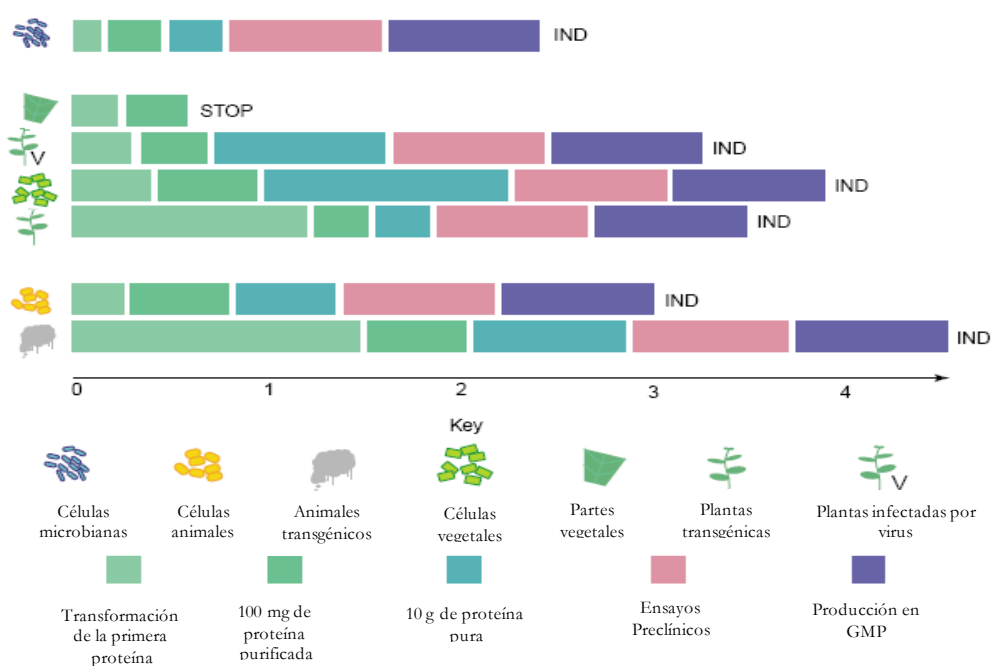


Figura 5.1. Esquema de comparación de los distintos sistemas de obtención de proteínas recombinantes.

Fuente: Basado en Tnyman et al, 2003

El sistema de expresión ideal que se busca para la producción de sustancias terapéuticas es aquel capaz de obtener compuestos de interés biológicamente más activos, en mayor cantidad, de forma más segura y con el coste más bajo posible. Un sistema de expresión

que se acerca a la definición anteriormente mencionada, son las plantas. Esto es posible debido a que la mayoría de los genes de cualquier origen se pueden expresar en sistemas heterólogos, como es el caso de los vegetales. Así, los sistemas vegetales son sistemas que presentan múltiples ventajas frente a otros modelos de expresión, de ahí la importancia y la generalización del uso de los términos *Molecular Farming* y *Molecular Pharming* (tabla 5.1).

Tabla 5.1 Comparación de aspectos técnicos de los diferentes sistemas de expresión: Plantas, levaduras, bacterias y sistemas animales.

Parámetros	Plantas transgénicas	Levaduras	Bacterias	Cultivos celulares de mamíferos	Animales transgénicos
Costes de almacenamiento	↓ (T ^a ambiente)	↓ (- 20°C)	↓ (- 20°C)	↑	↑
Distribución	Fácil	Factible	Factible	Difícil	Difícil
Tamaño del gen insertado	No limitado	¿?	¿?	Limitado	Limitado
Glicosilación	≈ Correcta	Incorrecta	No hay	Correcta	Correcta
Proteínas multiméricas (SigA)	Sí	No	No	No	Sí
Escala de producción	Gran escala	Limitado	Limitado	Limitado	Limitado
Costes de producción	↓	Medio	Medio	↑	↑
Propagación	Fácil	Fácil	Fácil	Difícil	Factible
Calidad del plegamiento de proteínas	≈ ↑	Media	↓	↑	↑
Homogeneidad proteica	≈ ↑	Media	↓	Media	↑
Rendimiento	↑	↑	Medio	≈ ↑	↑

Basada en Fischer & Emans, 2000 y Goldstein and Thomas, 2004.

*Secuencias virales residuales, oncogénicas o endotoxinas.

5.2. TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS FARMACÉUTICOS EN PLANTAS

La producción de plantas como biofactorías de compuestos bioactivos se lleva a cabo consiguiendo que la planta modificada exprese nuevas proteínas o bien modifique la expresión de proteínas propias. En este sentido cabe destacar que, de forma general, existen dos tipos de modificaciones genéticas: las estables transmisibles a la descendencia y las modificaciones que dan lugar a una expresión transitoria o puntual de proteínas recombinantes y, que por tanto, no se transmiten a la descendencia.

5.2.1. Transformación estable de la planta

Mediante la transformación genética estable se obtienen lo que se denominan “plantas transgénicas” como tal, es decir, plantas que incorporan ciertas modificaciones en su código genético de forma estable y que se transmiten a su descendencia tanto por reproducción sexual (mediante semillas) como asexual (mediante esquejes, micropropagación, etc.). Este tipo de transformación se realiza mediante transformación del material nuclear, o bien mediante la transformación del material de los plastos, siendo estos últimos unos orgánulos vegetales que poseen material genético susceptible de ser transformado.

Transformación del núcleo

Es la forma más frecuente de transformación estable y presenta la ventaja fundamental de que existen protocolos rutinarios de transformación y regeneración para vegetales a gran escala, entre los que existen muchas especies comestibles. Sin embargo este tipo de

transformación presenta numerosos inconvenientes, que hacen que en muchos casos no sea el método de elección:

- La inserción del material genético ocurre al azar, por lo que en muchas ocasiones el resultado obtenido dista mucho del esperado.
- Se produce una acumulación de proteínas recombinantes en el citoplasma que pueden presentar efectos tóxicos o nocivos para el desarrollo.
- Es necesario el empleo de marcadores para identificar y seleccionar las plantas modificadas.
- La modificación genética puede transmitirse por polinización, lo que da lugar a riesgos de contaminación cruzada.

Transformación de plastos

La transformación de plastos es una técnica más actual que presenta múltiples ventajas frente a la transformación nuclear en cuanto a niveles de expresión y contaminación cruzada se refiere. Los plastos son orgánulos subcelulares que poseen varias copias de un cromosoma circular denominado plastoma y que se encuentran en distintos tejidos y órganos vegetales. Un ejemplo de plastos son los cloroplastos (tejidos verdes y hojas) cromoplastos (flores y frutas maduras), amiloplastos (tubérculos) o leucoplastos (raíces) (Heifetz y Tuttle, 2001).

Aunque todos los plastos presentan copias del plastoma, no todos tienen la misma capacidad de expresión genética, siendo los cloroplastos los que presentan mayor potencial de expresión de sus genes seguidos de los cromoplastos y de los amiloplastos que presentan numerosas ventajas en la obtención de vacunas comestibles (Fischer *et al.*, 2004).

Como se aprecia en la tabla 5.2, existen algunos ejemplos de productos bioactivos obtenidos en plantas de tabaco, en las que mediante la técnica de modificación de cloroplastos se han obtenido elevados niveles de expresión de distintos compuestos.

Tabla 5.2 Niveles de expresión de compuestos bioactivos expresados en plantas modificadas genéticamente mediante la tecnología de transformación de plastos.			
Niveles de expresión (% PST)	Planta	Órgano	Proteína
> 7	Tabaco	Hojas, Cloroplastos	Hormona de crecimiento humana ^a
> 11,1	Tabaco	Hojas, Cloroplastos	Albúmina sérica humana ^b
25	Tabaco	Hojas, Cloroplastos	Fragmentos de toxinas tetánica colérica ^c
6	Tabaco	Hojas, Cloroplastos	Xilanaso termoestable ^c

a. Staub *et al.*, 2000.
 b. Fernandez-San Millán *et al.*, 2003.
 c. Twyman *et al.*, 2003.

PST: Proteína Soluble Total

La técnica de transformación por plastos presenta las siguientes ventajas e inconvenientes:

Ventajas:

- Integración del ADN exógeno mediante recombinación homóloga, lo que previene el efecto de posición errónea.
- Ausencia de efectos epigenéticos, como co-supresión o silenciamiento genéticos.
- Elevados niveles de expresión de proteínas en tejidos diferentes.
- Acumulación de proteínas recombinantes en el interior de los cloroplastos, previniendo problemas de toxicidad o interferencia en el desarrollo de la planta.
- Permite la introducción de varios genes a la vez bajo el control de un único promotor.

-
- Los cloroplastos no pueden transmitirse por polinización, ya que en la mayoría de los vegetales su herencia es materna, previniendo riesgos de contaminación cruzada.
 - Permite eliminar los marcadores utilizados para identificar y seleccionar las plantas modificadas.

Inconvenientes:

- Riesgo de transferencia horizontal a bacterias debido a la homología que existe entre el genoma bacteriano y el de los cloroplastos.
- El método de transformación de cloroplastos no está tan protocolarizado como el de transformación nuclear, ya que se hace de forma rutinaria en algunos vegetales como el tabaco, la zanahoria y el tomate.
- Mediante esta técnica no se pueden realizar algunas modificaciones postraduccionales como la glicosidación.
- No se produce exportación de las proteínas recombinantes hacia otros gránulos o compartimentos celulares.

Para conseguir una modificación estable de la planta existen diferentes sistemas en la actualidad, de los que los más importantes son la fusión de protoplastos, la transformación mediada por *Agrobacterium*, la transformación Biolística y la microinyección de genes.

El uso de cada técnica viene condicionado por el tipo de planta, ya que no siempre se han conseguido éxitos con todos sistemas. Cada técnica se ha desarrollado con sistemas modelo, es decir, con especies de plantas en las que las condiciones de manipulación y regeneración están bien establecidas, y para cada nueva especie es necesario establecer empíricamente las condiciones más efectivas y el mejor método de transformación.

Dentro de las técnicas de transformación de plastos, existen cuatro tecnologías que se encuentran en un estado de desarrollo avanzado y que son las denominadas: fusión de protoplastos, transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*, transformación biolística y microinyección de genes.

Fusión de protoplastos

Los protoplastos son células de cualquier tejido vegetal a las que previamente se les ha desprovisto de pared celular a través de procesos químicos o enzimáticos, que cuando se encuentran en suspensión, presentan la capacidad de incorporar fragmentos de ADN que se encuentran suspendidos en el medio.

La incorporación de ADN se puede favorecer mediante distintos métodos que modifican la permeabilidad de la membrana, como el tratamiento con polietilenglicol o mediante electroporación (aplicación de pulsos eléctricos de elevado voltaje que inducen la formación de poros en la membrana del protoplasto).

Transformación mediada por Agrobacterium tumefaciens

Agrobacterium tumefaciens es una bacteria que se encuentra en el suelo y que es patógena para plantas dicotiledóneas y para algunas coníferas, causando en éstas nódulos o tumores que pueden producir incluso la muerte de la planta.

El mecanismo de infección de *Agrobacterium* consiste en la inserción de una parte de ADN, llamado T-ADN que contiene un plásmido llamado “plásmido *Ti*” que provoca la formación de los tumores denominados “agallas de la corona”. Las células de este tumor pueden crecer en cultivo y se multiplican incluso en ausencia de hormonas. Durante la

infección, la bacteria transfiere un fragmento de su *plásmido Ti* a las células de la planta que termina integrándose en algún lugar de su cromosoma. Por ingeniería genética se puede insertar un gen de interés en la región T del *plásmido Ti*. Así, después de la infección, el nuevo gen será también transferido a la célula vegetal e insertado en el genoma de la planta.

Recientemente, este sistema se ha empezado a emplear para plantas monocotiledóneas llegándose a utilizar de forma eficaz en cultivos de arroz y de maíz. Esto es importante, porque las monocotiledóneas son esenciales, sobre todo en países en vías de desarrollo.

Transformación Biolística

Se denomina biolística o bio-balística a la introducción de ADN en células mediante la aceleración (disparo) de proyectiles de muy pequeño tamaño (microproyectiles). Generalmente, los microproyectiles tienen alrededor de una micra de diámetro, y son de un material inerte (oro o tungsteno). Los microproyectiles se pueden recubrir de ADN, y se pueden acelerar mediante pólvora, una descarga eléctrica, o utilizando gases a presión (por ejemplo helio comprimido). De esta forma se puede introducir ADN en prácticamente cualquier tejido de cualquier especie vegetal.

No obstante, el proceso tiene una desventaja, la falta de control sobre la integración del gen en el genoma de la planta. Puede suceder que el transgén se rompa durante el proceso y por tanto se integren fragmentos del ADN de partida, o que se integren demasiados transgenes y por tanto la planta reaccione silenciándolo, es decir, impidiendo que el gen se exprese.

Microinyección de genes

Otra técnica utilizada es la microinyección que consiste en inyectar en una célula vegetal una solución de ADN. La microinyección se realiza bajo control microscópico y con microcapilares, sin embargo este procedimiento resulta poco efectivo porque las puntas de los microcapilares se rompen y se obstruyen con facilidad además se necesitan inyectar al menos 10.000 células, una a una, para tener la seguridad de que al menos una de ellas ha incorporado el material genético.

5.2.2. Transformación transitoria de la planta

Mediante la transformación genética transitoria, se consigue la expresión de proteínas recombinantes sin que la planta sufra una transformación de su material genético, ya que el ADN recombinante no se inserta en el genoma o plastoma de la planta, sino que se logra producir grandes cantidades de ARN mensajero que es traducido en proteínas de interés. Además, una vez que el ARN mensajero es traducido a proteínas, la planta lo degrada impidiendo así su transferencia en la descendencia.

Para conseguir una modificación transitoria de la planta existen diferentes sistemas de los que los más importantes son la agroinfiltración y el uso de vectores virales.

Agroinfiltración

Consiste en un método mediante el que se introducen con aplicación de vacío cepas de *Agrobacterium tumefaciens* recombinantes que contienen aquellos genes que se desean expresar en el vegetal, con la salvedad de que el gen se introduce en el núcleo celular pero no se integra en el material genético de la planta.

La gran ventaja que plantea este método es que no es necesario incluir marcadores que permitan identificar las células transformadas, ya que no es necesario regenerar la planta. Sin embargo, un inconveniente de este sistema es que aunque permite obtener niveles de proteína recombinante óptimos, éstos se mantienen durante muy poco tiempo lo que impide su uso a escala comercial (Fischer *et al.*, 2004).

Vectores Virales

La expresión transitoria de proteínas mediante vectores virales consiste en la inoculación de secuencias genéticas mediante virus recombinantes. Estos virus contienen las secuencias que se desean expresar en la planta. Una vez que los virus infectan a la planta, utilizan su maquinaria de síntesis proteica para expresar la secuencia que se ha introducido provocando una acumulación de proteína recombinante (Sala *et al.*, 2003). Pueden utilizarse distintos tipos de virus para la construcción de vectores, aunque los más utilizados son el virus del mosaico del tabaco, de la alfalfa y del caupí, el virus X de la patata, el virus del enanismo ramificado del tomate o el potyvirus de la viruela del ciruelo.

Las ventajas que presenta el empleo de virus son numerosas:

- Poseen un elevado nivel de replicación, lo cual facilita obtener elevadas cantidades de proteína.
- Presentan genomas pequeños fácilmente manipulables.
- Se pueden utilizar para distintos hospedadores.
- Se puede utilizar infección simultánea con varios vectores, consiguiendo producir distintas proteínas en la misma planta.
- No existe riesgo de infección a animales ni a humanos porque son virus que infectan vegetales exclusivamente.

5.3. COMPUESTOS DE INTERÉS FARMACÉUTICO EXPRESADOS EN PLANTAS

5.3.1. Producción de proteínas sin carácter inmunológico

En el año 1990 Sijmons y col. describieron por primera vez la expresión de una proteína de origen animal, la seroalbúmina humana, en plantas de tabaco. A partir de ese momento, numerosos grupos de investigación han intentado expresar diferentes moléculas proteicas en plantas, existiendo en la actualidad un número elevado de proteínas de interés farmacológico (*Molecular Pharming*) obtenidas a partir de sistemas vegetales.

Dentro de las proteínas expresadas en estos sistemas, los desarrollos más prometedores se han obtenido en la producción de hirudina, seroalbúmina, interferones, insulina, lactoferrina, glucocerebrosidasa, factores de crecimiento, aprotinina, avidina y proteína beta amiloide, tal y como se muestra a continuación:

Hirudina

La hirudina es un anticoagulante natural ampliamente utilizado para el tratamiento de la trombosis. Originariamente, esta sustancia se extraía de un tipo de sanguijuela (*Hirudo medicinalis*), de aquí su nombre. En los últimos años se ha obtenido a partir de levaduras y de bacterias modificadas genéticamente, pero actualmente se puede obtener de forma más barata a partir de plantas modificadas genéticamente. La hirudina así obtenida se ha convertido en la primera sustancia producida de forma comercial en plantas transgénicas de nabo (*Brassica napus*) y de mostaza (*Sinapis alba*) (Cramer *et al.*, 1999; Gómez Lim. 2001).

La empresa SemBioSys (Calgary, Canadá) patentó su expresión en colza, abaratando y simplificando su purificación mediante fusión de hirudina a oleosinas (Lencina, 2009).

Seroalbúmina

La seroalbúmina humana es la proteína del suero sanguíneo que contribuye a mantener la presión osmótica de la sangre y es la proteína con mayor demanda en los hospitales de todo el mundo. Su obtención a partir de la sangre supone un riesgo potencial de contagio de enfermedades. Por esta razón, desde hace unos años, se empezaron a buscar alternativas para obtenerla por otros medios.

Actualmente se están llevando a cabo ensayos con plantas modificadas genéticamente. Se ha conseguido producir albúmina humana en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) (Kusnadi *et al.*, 1997; Gómez Lim, 2001) y en tubérculos de patata (*Solanum tuberosum*), este último desarrollo realizado por el Dr. Ángel Manuel Mingo Castell, Catedrático de Biotecnología Vegetal de la Universidad Pública de Navarra. Este desarrollo tiene algunas limitaciones, como es el superar la actual concentración del 0,2% al 1% de la proteína soluble total (PST) en el tubérculo, mínimo exigido por las industrias farmacéuticas para su producción comercial rentable (Fernández-San Millán *et al.*, 2003).

Interferón humano

El interferón es una proteína (de la clase de las glicoproteínas, como las citoquinas) producida naturalmente por el sistema inmunitario de la mayoría de los animales como respuesta a agentes externos, tales como virus, bacterias, parásitos y células cancerígenas. En los seres humanos hay tres tipos principales de interferón: el primer tipo está compuesto por catorce isoformas diferentes del interferón α , e isoformas individuales como la β ; el segundo tipo consiste en el interferón γ y recientemente se ha descubierto

una tercera clase de interferón, el λ , con tres isoformas diferentes. El interferón α y β es producido por varios tipos celulares: las células T y las células B, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales y osteoblastos, entre otras, y son componentes importantes de la respuesta antiviral. Estimulan a los macrófagos y a las células NK (*Natural Killer*) y son activos frente a tumores. El interferón actúa en dos niveles: por un lado evita la replicación vírica en células aún sanas y, por otro lado, favorece la destrucción de las células ya infectadas.

La producción de interferón era costosa económicamente hasta 1980, ya que se obtenía por aislamiento y purificación a partir de muestras biológicas infectadas por virus. Sin embargo, gracias a la tecnología del ADN recombinante, a partir de esa fecha se identificaron los genes codificadores de la expresión de interferón y se introdujeron en bacterias permitiendo el cultivo masivo y purificación a partir de las mismas. Actualmente existen varios tipos de interferón que han sido aprobados para su uso en humanos, y la terapia de interferón es usada, junto con quimioterapia y radioterapia para el tratamiento del cáncer. El interferón α se emplea en el tratamiento de la hepatitis C y de la leucemia mielógena crónica. El interferón β es utilizado en el tratamiento y control de la esclerosis múltiple.

En la actualidad se está produciendo interferón en arroz (*Oryza sativa*) (Zhu *et al.*, 1994) y en nabo (*Brassica napus*), modificados genéticamente (Cramer *et al.*, 1999) y en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) (Kusnadi *et al.*, 1997) así como los últimos desarrollos tienden a producir interferones α de pollo en plantas como la lechuga (*Lactuca sativa* L.) y que están dando resultados prometedores en cuanto al nivel de expresión (Li *et al.*, 2008).

Insulina humana

La insulina es una hormona generada en el páncreas que está relacionada directamente con la diabetes. Los mamíferos producen insulina en las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas, la cual tiene la función de regular los niveles de glucosa en la sangre, de tal manera que un defecto en su síntesis conduce a la diabetes.

Tradicionalmente, la insulina utilizada en el tratamiento y control de la diabetes, procedía de páncreas de cerdos o vacas que, aunque es biológicamente activa en humanos, no es idéntica, de modo que se pueden producir algunos problemas de reacciones inmunes adversas. En la actualidad, la insulina que se utiliza es insulina recombinante, siendo la el primer caso de proteína obtenida por ingeniería genética a partir de cepas de *E. coli* aprobada para uso en humanos en 1982, con el nombre comercial de Humulina[®], de la compañía Eli-Lilly.

Langridge *et al.* desde el año 2000 están realizando ensayos con patatas transgénicas (*Solanum tuberosum*) que sintetizan insulina humana, logrando que ratones diabéticos alimentados con este material muestren una reducción sustancial de los síntomas asociados a la diabetes y una disminución en el progreso clínico de esta enfermedad. En la misma línea de trabajo, un grupo de investigación de la Universidad de Calgary, en Canadá; actualmente está obteniendo grandes cantidades de insulina a partir de plantas de *Arabidopsis thaliana* y de semillas de *Carthamus tinctorius* (Cory *et al.*, 2005).

Lactoferrina

La lactoferrina es una proteína que tiene la capacidad de fijar el hierro, lo que conlleva que los microorganismos patógenos no disponen de él para su proliferación. Además, posee un efecto bactericida al interactuar con la pared de los microorganismos

desestabilizándoles y causándoles la muerte. Estos son algunos motivos por los que se piensa que la lactoferrina puede desempeñar un papel fundamental como antimicrobiano en la protección del recién nacido frente a infecciones gastrointestinales.

Actualmente se están realizando ensayos para obtener lactoferrina humana recombinante generada a partir de plantas modificadas genéticamente (Stefanova *et al.*, 2008), a partir de diferentes especies vegetales como patata, tabaco, maíz, arroz y cebada.

La obtención de lactoferrina humana a partir de plantas de patata (*Solanum tuberosum*) se consiguió mediante la inserción de un por el método de infección con *Agrobacterium tumefaciens* (Chong y Langridge, 2000). El gen de la lactoferrina se expreso de forma estable de tal manera que fue detectado posteriormente en el tejido de dicho tubérculo y en las hojas de la planta obteniendo niveles de expresión de aproximadamente un 0,1% respecto al total de proteína vegetal soluble. En este mismo trabajo, Chong y Langridge observaron la actividad ADN circular (ADNc) antimicrobiana de la lactoferrina expresada en una población tipo de cuatro pacientes.

El trabajo realizado por Samyn-Petit y colaboradores en el año 2003, supuso un estudio comparativo de producción de lactoferrina en dos sistemas vegetales tales como el maíz (*Zea mays*) y el tabaco (*Nicotiana tabacum*). En esta revisión se estudió específicamente el proceso de N-glicosilación de la lactoferrina en plantas monocotiledóneas como el maíz y en plantas de tabaco como un modelo de planta dicotiledónea. Ambos sistemas se transformaron de forma estable y la proteína pudo purificarse a partir de semillas y de hojas. En este estudio se concluyó que la N-glicosilación de lactoferrina recombinante producida en maíz y en tabaco comparten características estructurales comunes (Samyn-Petit *et al.*, 2001 y 2003).

La producción de lactoferrina en plantas de arroz (*Oryza sativa*) está muy avanzada, de hecho, se han realizados estudios poblacionales en niños con papillas ricas en cereales, en particular con arroz modificado genéticamente capaz de expresar una variante de la lactoferrina humana llamada rHLF (rice Human Lactoferrin). Los niveles de expresión obtenidos de rHLF en los granos de arroz de forma selectiva y no en otros tejidos de la planta, fueron estables y superiores a 0,5%. Además se pudo comprobar como esta rHLF es idéntica a la lactoferrina humana en aquellos aspectos fundamentales como en su extremo N-terminal, en la capacidad bactericida así como en la resistencia a ciertas proteasas lo cual impide la degradación de la misma en el tracto gastrointestinal (Nandi *et al.*, 2002; Zavaleta, *et al.*, 2007).

Por otro lado, Rachmawati *et al.*, en el año 2005 consiguió niveles de expresión de lactoferrina en semillas de arroz (*Oryza sativa*) de hasta un 15% en relación con la proteína soluble total, mediante la técnica de infección con *Agrobacterium tumefaciens* en la variedad de arroz “*Javanica*”. Además pudieron comprobar en sus estudios cómo los extractos de proteínas de las semillas transgénicas de arroz exhibían una actividad antibacteriana contra la cepa de *Bacillus subtilis* ATCC6633 correcta (Rachmawati *et al.*,2005).

La obtención de cebada (*Hordeum vulgare*) modificada genéticamente que expresa lactoferrina humana (HLF) se ha conseguido recientemente en a partir de la variedad búlgara de cebada (*Hordeum vulgare* L.) mediante la técnica de bombardeo de partículas (Kamenarova *et al.*, 2007). En el estudio realizado por Kamenarova y colaboradores se presentó un sistema eficiente para la introducción del gen que codifica la proteína recombinante. Estos datos sugieren que la cebada comercial puede ser utilizada como un biorreactor para la obtención de proteínas con alto interés farmacéutico, como la lactoferrina.

Glucocerebrosidasa

La enzima glucocerebrosidasa es la responsable de metabolizar un tipo de lípidos denominados glucocerebrósidos. Esta enzima se encuentra muy disminuida en pacientes que sufren la Enfermedad de Gaucher (deficiencia hereditaria de la enzima glucocerebrosidasa) que dificulta el correcto metabolismo de los glucocerebrósidos provocando la acumulación de una sustancia tóxica (glucosilceramida) en diferentes partes del cuerpo, como el bazo, el hígado y los huesos y que repercute en dolencias tales como, fuertes dolores, fatiga, ictericia, daños óseos, anemia y finalmente la muerte. Esta enzima originariamente se obtenía de forma costosa a partir de placentas humanas. En la actualidad, un grupo de investigadores del Estado de Virginia, ha conseguido producir glucocerebrosidasa a partir de plantas de tabaco modificadas genéticamente (*Nicotiana tabacum*), hecho que ha reducido los costes de obtención de esta enzima a escala industrial (Cramer *et al.*, 1999; Gómez Lim, 2001).

Factores de crecimiento

La hormona de crecimiento humana (hGH) es un péptido de 191 aminoácidos producido por la hipófisis (glándula pituitaria), que estimula el crecimiento normal. Los niños que no producen niveles adecuados tienden a tallas inferiores a las normales (enanismo hipofisario). Antes, esta enfermedad se trataba con hormona extraída de cerebros de cadáveres; extracción larga y costosa, con poco rendimiento y cuyo producto, además, de vez en cuando daba infecciones con virus y priones procedentes de los cerebros de los cadáveres. Todo esto, se ha resuelto con la ingeniería genética, siendo el segundo producto recombinante que entró en el mercado farmacéutico.

La primera hGH fue sintetizada en 1985 por Genentech en *E. coli* con una metionina adicional en posición N-terminal, por lo que no era exactamente igual a la hormona natural, que comienza por una fenilalanina. Esto motivó que, con posterioridad, otras

compañías farmacéuticas pudieran comercializar sin problemas de patentes la verdadera hGH que se producía en *E. coli* mediante un nuevo proceso que implicaba la secreción de la hormona al periplasma bacteriano y evitaba la presencia de la metionina N-terminal. En la actualidad, millones de dosis de la hormona recombinante se administran cada año a cientos de miles de pacientes.

También se están produciendo otros factores como el factor de crecimiento humano a partir del musgo *Physcomitrella patens* como planta modelo, obteniendo resultados prometedores en los últimos años (Baur *et al.*, 2005) o el factor de crecimiento de macrófagos que actualmente se está produciendo a partir de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) (Kwon *et al.*, 2003) y a partir de plantas de arroz (*Oryza sativa*) (Shin *et al.*, 2003).

Aprotinina

Los intentos farmacológicos para reducir la hemorragia y transfusión en pacientes sometidos a intervención cardíaca, están basados en la prevención de los defectos asociados con la coagulopatía inducida por la circulación extracorpórea. Las intervenciones farmacológicas actualmente aceptadas, se basan en el uso de un inhibidor de la proteasa, la parotina, o análogos de la lisina para inhibir la fibrinólisis. Dentro de éstos, la aprotinina, es una proteína del grupo de los inhibidores de serin-proteasas, usados en procedimientos médicos para disminuir la respuesta inflamatoria y reducir la pérdida de sangre durante cirugías complejas como la de corazón e hígado. También se usa en investigación científica y durante los procesos de fabricación para impedir la degradación de productos proteicos, así como para el tratamiento de la pancreatitis aguda. Fue identificada por primera vez en el pulmón de bovinos, aunque también se puede obtener a partir de levaduras recombinantes. Actualmente, se está produciendo en plantas de maíz

(*Zea mays*) en la planta acuática *Spirodela*, conocida también como lenteja de agua, utilizando técnicas de ingeniería genética (Azzoni *et al.*, 2002).

Avidina

La avidina es una glucoproteína presente en la clara del huevo que se une a la biotina (vitamina del grupo B) impidiendo su aprovechamiento por parte del organismo. Cuando se ingiere clara de huevo cruda, la avidina se combina con la biotina en el intestino e impide su absorción. Gracias a la afinidad y la especificidad de la avidina por la biotina, muchos grupos de investigación comenzaron a estudiar el comportamiento de la avidina como una sonda o matriz de gran afinidad en numerosas técnicas de fluorescencia y microscopía, lo que permitió avanzar en los estudios relacionados con los sistemas de marcaje inmunocitoquímico (Heggeness y Ash, 1977).

Aunque de forma general existen cuatro tipos de métodos de marcaje y detección (directo, indirecto, de puente y de antígeno marcado), los métodos inmunocitoquímicos que utilizan el complejo avidina-biotina o estreptavidina-biotina no difieren en su esquema metodológico general de los anteriores (Murray *et al.*, 2002). La característica principal del método de detección mediante la unión avidina-biotina es que utiliza un anticuerpo biotinilado que puede visualizarse mediante tres métodos diferentes: con avidina (o estreptavidina) marcada, con avidina marcada actuando como puente para enzimas biotinilados y con el complejo avidina-biotina-peroxidasa u otro marcador (sistema ABC). El método ABC es el más utilizado ya que es el más sensible. Hoy en día, ya se está produciendo avidina en plantas de maíz modificadas genéticamente (*Zea mays*) obteniendo niveles de expresión en semillas de maíz de 2,3% respecto a la proteína total de la semilla y que se mantuvieron estables entre 50 y 95 días, a una temperatura de 10 °C (Hood *et al.*, 1997).

Proteína β -amiloide

La enfermedad de Alzheimer es la causa más común de demencia. Su progreso es muy lento y se cree que está causada por la acumulación en el cerebro de beta-amiloide humano, una proteína fibrosa insoluble y tóxica, que provoca la muerte de las neuronas. Por lo tanto, si se reduce la acumulación de esta proteína, se podría inhibir la degeneración del sistema nervioso, y por consiguiente, prevenir o retrasar la aparición de la enfermedad.

Los investigadores del Instituto KRIBB y del departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Wonkwang en Corea (Youm *et al.*, 2008) han intentado desarrollar una vacuna vegetal contra el Alzheimer a través de un sistema vegetal como es el tomate.

Los investigadores de este estudio han elegido el tomate por ser un candidato atractivo como portador de la proteína ya que se puede ingerir sin necesidad de tratamiento térmico. Los investigadores introdujeron el gen del beta-amiloide en el genoma del tomate y midieron las respuestas inmunitarias a la proteína tóxica derivada del tomate en un grupo de ratones de 15 meses de edad. Inmunizaron a los ratones por vía oral con las plantas de tomate transgénico una vez a la semana, durante tres semanas. También administraron a los ratones una dosis de recuerdo después de la primera ingesta de tomate.

Los análisis de sangre mostraron una fuerte respuesta inmunitaria tras la dosis de recuerdo con la producción de anticuerpos frente a la proteína extraña humana. Aunque no se ha observado una reducción de las placas existentes en el cerebro de los ratones expuestos al beta-amiloide derivado del tomate, este estudio representa una estrategia única en la cual se usan plantas transgénicas que expresan la proteína para producir una vacuna.

En la actualidad, el equipo de investigación, que ha publicado recientemente las conclusiones de su trabajo en la revista *Biotechnology Letters*, busca estrategias que incrementen la potencia de la vacuna basada en el tomate, ya que los tomates obtenidos contienen sólo un 0,7% de proteína expresada.

De esta forma, cada vez son más los compuestos bioactivos que se producen por tecnologías recombinantes con una alta eficiencia y a un coste razonable, pero lo que tal vez es más importante proporcionando una gran seguridad de uso (tabla 5.3).

Tabla 5.3 Niveles de expresión de proteínas biofarmacéuticas expresadas en plantas modificadas genéticamente

Niveles de expresión (% PST)	Planta	Órgano	Proteína	Aplicación
1-10	Tabaco	Hojas Cloroplastos	Glucocerebrosidasa	Enfermedad de Gaucher ^a
0,30	Nabo	Semillas	Hirudina humana	Inhibidor de trombina ^b
0,02-11	Tabaco	Hojas Cloroplastos	Albúmina sérica humana	Cirrosis hepática, quemaduras cirugía ^c
0,2-1	Patata	Tubérculo		Cirrosis hepática, quemaduras cirugía ^d
< 0,01	Tabaco	Hojas Cloroplastos	Interferón β humano	Tratamiento de Hepatitis B y C ^e
15	Arroz	Fruto	Lacto ferrina humana	Antimicrobiano, Fortificación de fórmulas infantiles ^f
0,1	Patata	Tubérculo		Antimicrobiano, Fortificación de fórmulas infantiles ^g
No registrado	maíz	Semilla	Aprotinina humana	Inhibidor de tripsina para cirugía en transplantes ^h
No registrado	Tabaco	Hojas Cloroplastos	Factor estimulante de colonias de macrófagos	Tratamiento de neutropenia ⁱ
0,7	Tomate	Fruto	Proteína β -amiloide	Alzheimer ^j

a. Cramer *et al.*, 1999; Gómez Lim, 2001.

b. Cramer *et al.*, 1999.

c. Fernández-San Millán, 2003; Kusnadi *et al.*, 1997.

d. Fernández-San Millán *et al.*, 2003.

e. Kusnadi *et al.*, 1997; Cramer *et al.*, 1999.

f. Rachnawati *et al.*, 2005.

g. Nandi *et al.*, 2002; Chong y Langridge, 2000.

h. Giddings, *et al.*, 2000, 2001.

i. Daniell *et al.*, 2001, 2002.

j. Youm *et al.*, 2008.

PST: Proteína Soluble Total

Con independencia del compuesto de interés, los factores más importantes a la hora de elegir un cultivo determinado como biofactoría de compuestos biofarmacéuticos son los siguientes (Genoma España / CIAA-PCM, 2005):

- Disponibilidad de protocolos de transformación que permitan expresar la proteína que se desea obtener de la manera más sencilla posible.
- Velocidad de escalado.
- Rendimiento del cultivo por unidad de superficie cultivada (rendimiento de biomasa).
- Rendimiento de la proteína transgénica por unidad de biomasa cosechada.
- Coste del cultivo (necesidad de invernaderos o requerimientos de nutrientes especiales).
- Existencia de infraestructura que permita la recolección y procesado.
- Estabilidad de la proteína en el tejido en el que se acumula.
- Coste de almacenamiento y transporte de órgano o tejido de la planta en el que se encuentra la proteína recombinante.
- Coste de purificación.
- Presencia de sustancias tóxicas que haya que eliminar durante el procesado.
- Riesgos ambientales de escapes a través de polen o de consumo por animales herbívoros o insectos de tejido que contiene la proteína recombinante.

Todas estas características hacen que la elección de un cultivo u otro sea crucial para la expresión del compuesto de interés en cada caso, en la cantidad adecuada y con los niveles de expresión necesarios para su posterior administración.

El mercado de obtención de moléculas bioactivas está en continuo crecimiento y se estima que aproximadamente 700 productos se encuentran en ensayos clínicos actualmente. La mayoría de ellos se destinan al cáncer y a enfermedades cardiovasculares e infecciosas. Aunque en principio muchos de estos productos imitaban a los compuestos naturales, cada vez son más aquellos en los que se introducen mutaciones por ingeniería de proteínas para mejorar su eficacia terapéutica. Casi todos los productos son proteínas aunque poco a poco se van comercializando productos basados en ácidos nucleicos, como vacunas ADN, oligonucleótidos antisentido y ribozimas.

Por lo tanto, la Ingeniería Genética ha proporcionado al menos tres grandes ventajas en la producción de proteínas de interés farmacéutico, ya que no sólo ha supuesto una forma de solucionar los problemas de la disponibilidad y de la seguridad de la fuente de obtención sino que también ha facilitado la posibilidad de modificar el nuevo fármaco mediante ingeniería de proteínas (Andersen y Krummen, 2002).

5.3.2. Producción de proteínas con carácter inmunológico

Además de los compuestos de interés farmacéutico comentados en el apartado anterior, resulta particularmente interesante la producción de anticuerpos y vacunas en plantas. Con respecto a los anticuerpos, se emplean en el desarrollo de métodos de diagnóstico y tratamiento del cáncer. Las plantas permiten la producción de inmunoglobulinas completas y funcionales, capacidad hasta ahora limitada al cultivo de células de mamífero.

En cuanto a las vacunas, la producción en sistemas vegetales ofrece la posibilidad de generar vacunas comestibles, que resultan más baratas, estables y fáciles de administrar. Hay muchas vacunas comestibles que se están desarrollando en el laboratorio, aunque ya algunas se están ensayando en humanos, con resultados satisfactorios.

5.3.2.1. Producción de anticuerpos

Los anticuerpos son un tipo importante de proteínas empleadas para prevención, tratamiento y diagnóstico de muchas enfermedades de origen inmunológico. Hoy en día, existe una intensa demanda de anticuerpos recombinantes, obtenidos en su gran mayoría, a partir de cultivos celulares microbianos o cultivos celulares de mamífero (Stöger *et al.*, 2002; Stöger, 2002). Por esta razón, es necesario buscar sistemas alternativos para la producción de este tipo de proteínas. En este sentido, las plantas ofrecen un gran potencial como fuente virtualmente ilimitada de anticuerpos monoclonales baratos, llamados en ocasiones “*planticuerpos*”, que pueden ser utilizados en terapia humana y animal (Fischer *et al.*, 2004, Hood *et al.*, 2002).

La importancia de estas estructuras viene definida por las diferentes aplicaciones que tienen este tipo de proteínas entre las que destacan, la inmunización pasiva, la confección de técnicas analíticas para determinar la presencia de agentes infecciosos, entre los que se destacan el método ELISA, la aglutinación y la precipitación, la tipificación de grupos celulares y de grupos sanguíneos y la fenotipificación de tumores, entre otras (Hiatt *et al.*, 1989; Hiatt y Ma, 1993).

Desde hace más de quince años, las plantas han demostrado ser sistemas versátiles de producción para muchos tipos de planticuerpos como IgG e IgA, IgG/IgA quiméricos y otros (Bakker *et al.*, 2001; Nuttall *et al.*, 2002). Hasta la fecha, sólo cuatro de los anticuerpos producidos en plantas tienen el potencial de ser utilizados como agentes terapéuticos y, únicamente los anticuerpos IgA-IgG han sido probados en seres humanos contra *Streptococcus mutans* con la finalidad de obtener una pasta de dientes que confiera protección contra la caries (Lal *et al.*, 2007).

Existen, sin embargo, más ensayos planificados para humanos de este tipo de planticuerpos ya, que cuando han sido probados en animales han demostrado su eficacia. El problema que plantea la obtención de este tipo de estructuras proteicas es que se requiere la producción de las cuatro cadenas que componen la estructura general de la inmuglobulina (dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras) junto con otras dos proteínas, una de las cuales se produce *in vivo* durante el proceso de secreción. Este último paso es el factor limitante para la producción de planticuerpos que impide que existan más desarrollos en esta materia (Kathuria, 2002).

Tras muchos años de investigación, la primera generación completa de este tipo de planticuerpos se obtuvo mediante el cruce controlado de cuatro variedades de plantas transgénicas de tabaco (Ma *et al.*, 1998).

Otra ventaja que ofrecen los planticuerpos es que existe una proporción elevada de los mismos que se secretan en forma de dímeros. En el caso de las IgA, este hecho es sumamente interesante puesto que este tipo de inmunoglobulina requiere la secreción en forma de dímero con una única cadena J en contraposición con las IgG, IgD e IgE que se secretan en forma de monómero (Schillberg *et al.*, 2003).

En esta línea, la IgA producida en sistemas vegetales como planticuerpo, se secreta en su gran mayoría en forma de dímero lo cual supone una clara ventaja frente a otros sistemas de secreción, como las IgA secretadas a partir de células de insecto infectadas por *Baculovirus*, que en su gran mayoría son monoméricas y por tanto no viables tal cual se secretan.

Para la producción de planticuerpos se prefieren las semillas frente a otras partes aéreas de la planta como las hojas ya, que estas últimas sufren mayor degradación, lo que exige la extracción inmediata de los mismos. Adicionalmente, las semillas se pueden conservar a temperatura ambiente durante largos periodos de tiempo.

Los últimos estudios en la producción de este tipo de compuestos proteicos van dirigidos a la obtención de planticuerpos para el tratamiento de la hepatitis B, así como, planticuerpos anti-VIH. Para esta última afección, se está intentando obtener una crema que permita prevenir el riesgo de contagio a partir de extractos vegetales que contienen dichos anticuerpos en plantas de tabaco (Lal *et al.*, 2007).

Otras líneas de investigación van dirigidas a la obtención de anticuerpos monoclonales (AcMos) expresados en plantas de soja contra las enfermedades de transmisión sexual, como el herpes genital. Las investigaciones en este sentido han mostrado cómo la comparación de este tipo de anticuerpos monoclonales expresados en soja con anticuerpos humanizados anti-VHS-2Mab expresados en cultivos celulares de mamífero, resultaron similares en cuanto a estabilidad en semen humano así como en el mucus cervical femenino durante más de 24 horas, con una eficacia similar en la prevención de la infección genital por VHS-2 en ratones (Zeitlin *et al.*, 1998; Ma *et al.*, 1998).

Los últimos avances en planticuerpos han sido obtenidos por investigadores del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Cuba (CIGB), que han conseguido obtener anticuerpos recombinantes en vegetales, de interés farmacéutico y veterinario. Los desarrollos de este grupo de investigación han sido sumamente innovadores puesto que los planticuerpos producidos en sus sistemas vegetales han sido empleados para la purificación de una vacuna contra el virus de la hepatitis B, cuyo ingrediente farmacéutico activo es el antígeno de superficie de dicho virus (AgsHB) obtenido de forma

recombinante en levaduras. La importancia de su investigación radica en el uso del anticuerpo monoclonal CB Hep.1 (HB-01) producido en plantas de tabaco para la purificación de dicha vacuna.

Los resultados favorables propiciaron el registro en Cuba en el año 2006 del primer anticuerpo monoclonal obtenido a partir de plantas transgénicas de tabaco, como reactivo en la purificación inmunocromatográfica de la vacuna anti-Hepatitis B del antígeno de superficie AgsHB de la vacuna contra la hepatitis B Heberbiovac-HB[®] recombinante (Kaiser, 2008).

Este producto ha logrado cumplir con las exigencias de las autoridades de autorización de medicamentos en Cuba (CECMED) así como de la Organización Mundial de la Salud en tres ocasiones consecutivas, por lo que Heberbiovac-HB[®] permanece en la lista de vacunas preclasificadas positivamente para su comercialización.

Otro ejemplo de un anticuerpo que está siendo evaluado en fase clínica, es una formulación de aplicación tópica en la cavidad bucal que contiene el anticuerpo *Guy's 13* producido en tabaco y que ha sido desarrollada por el laboratorio norteamericano Planet Biotechnology. Esta formulación, comercialmente conocida como CaroRx[®], actualmente está siendo evaluada en un ensayo en fase II con un número limitado de pacientes.

Importancia del silenciamiento génico en la producción de anticuerpos

El silenciamiento génico es un mecanismo de vigilancia que está presente en todos los organismos eucariotas (excepto en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*) y que participa en la defensa frente a virus y viroides, protege el genoma de transposones y regula la expresión génica. Este mecanismo adopta diferentes denominaciones dependiendo del organismo en

el que se produzca. Así, se denomina “*quelling*” en hongos, silenciamiento génico postranscripcional (PTGS) en plantas e interferencia de ARN (ARNi) en animales (Baulcombe, 2004).

Este mecanismo, que permite el control de la expresión de genes endógenos y exógenos, desempeña un papel decisivo en la diferenciación celular, en la regulación del desarrollo y en la defensa contra genes foráneos. Este fenómeno puede ocurrir tanto en el núcleo como en el citoplasma y regula la transcripción y la traducción de determinados genes (Matzke *et al.*, 2002).

Se ha confirmado experimentalmente desde hace años que al transformar una planta con un determinado transgén, el nivel de expresión del mismo puede disminuir considerablemente (Matzke y Matzke, 1998) por lo que se piensa que el mecanismo de silenciamiento génico es el que más influye negativamente sobre la expresión de transgenes en plantas (Butaye *et al.*, 2005). Para optimizar la producción de proteínas (y específicamente de anticuerpos) en plantas, es necesario conocer el mecanismo de silenciamiento génico.

El mecanismo de silenciamiento génico ocurre de forma natural en las plantas, y esto puede ser demostrado por las consecuencias negativas que reporta la mutación irreversible de algunos de sus componentes. El silenciamiento juega un papel decisivo en el mantenimiento de la integridad del genoma. Esta protección incluye la infección por virus y viroides (mediada por siARN), así como de los daños causados por los transposones, retrotransposones y trasgenes (mediada por siARN) (Dykxhoorn y Lieberman, 2005). Una de las funciones más importante del silenciamiento radica en el control del desarrollo de la planta mediado por miARN y siARN y, en consecuencia, en la producción de diferentes elementos proteicos como los plantícuerpos.

Hasta el momento, se han encontrado un gran número de genes de importancia para la planta que son regulados a través de estos ARN (especialmente por miARN), como los del receptor de auxina, los genes relacionados con la delimitación y separación de órganos, los del desarrollo de estructuras reproductivas, los de la división celular durante la morfogénesis de las hojas y flores, los de la respuesta de la planta ante el estrés abiótico, e incluso algunos componentes del propio mecanismo de silenciamiento (Xie *et al.*, 2003; Chen, 2005; Bao *et al.*, 2004).

Por todo lo anteriormente expuesto, para conseguir evadir los inconvenientes introducidos por el silenciamiento génico transcripcional y postranscripcional en la expresión de planticuerpos en sistemas vegetales, se han desarrollado varias estrategias. Algunas van encaminadas a disminuir la eficiencia del reconocimiento del transcripto por parte de la maquinaria de silenciamiento (Le Hir *et al.*, 2003), mientras que otras están dirigidas a producir plantas deficientes en algún componente de dicho mecanismo.

De esta forma, hoy en día, la aplicación de la Agrobiotecnología en los sistemas vegetales permite la producción de diferentes tipos de proteínas recombinantes a gran escala. Este tipo de proteínas posee, entre otros aspectos, la capacidad de modular la respuesta inmune de un individuo. En este sentido, existen claras diferencias en la producción de proteínas dependiendo del sistema vegetal empleado. Por ejemplo, tanto la alfalfa como el tabaco pueden ser cosechados varias veces al año, con una producción potencial de biomasa por año de 17 toneladas por hectárea y de 50 toneladas por hectárea, respectivamente. En contraste, la producción máxima de trigo, arroz o maíz difícilmente rebasa las 6 toneladas por hectárea. Otras ventajas que ofrecen algunos sistemas, como el tabaco, es su facilidad para la manipulación genética, la producción de un gran número de semillas (hasta un millón por planta) así como la imperiosa necesidad de explorar otros usos para este cultivo (Loza-Rubio y Gómez Lim, 2006).

5.3.2.2. Producción de compuestos antigénicos: Vacunas

Los considerables adelantos en el área de la biotecnología vegetal molecular han brindado la oportunidad a las plantas para que puedan concebirse como verdaderos biorreactores para la producción de biomoléculas, como antígenos y proteínas con carácter inmunológico. De este modo, cuando se aplica la tecnología del ADN recombinante, se consigue que ciertas proteínas se expresen en tejidos vegetales de forma homogénea (Genoma España/CIBT-FGUAM, 2004).

Así, cuando dicho tejido vegetal es ingerido, desencadena la respuesta inmune que confiere inmunidad contra ciertos agentes patógenos específicos. A través de este procedimiento, dicho tejido vegetal puede emplearse como vacuna comestible, tanto para seres humanos como para otras especies animales. En los últimos años, se ha demostrado que esta idea es absolutamente viable, y ya se han obtenido con éxito diferentes antígenos expresados en plantas modificadas genéticamente que han inducido respuestas inmunes al ser administrados por vía oral.

La producción de este tipo de antígenos en plantas modificadas genéticamente presenta numerosas ventajas como el uso de la infraestructura agrícola existente, menores costes de producción y la posibilidad de obtener altos niveles de producción de manera sencilla. Además, una diferencia sustancial que presentan los sistemas vegetales es que las proteínas así producidas no están contaminadas ni con patógenos animales ni con patógenos humanos, por lo que los costes de purificación y distribución son menores.

Adicionalmente, estas proteínas antigénicas presentan la ventaja de no requerir un desarrollo industrial avanzado pudiéndose producir en países en vías de desarrollo, ya que no requieren de instalaciones sofisticadas ni costosas.

A todas estas ventajas, se suma el hecho de que la expresión se puede llevar a cabo en tejidos vegetales de almacenamiento (tubérculos, frutos y semillas) en los que las proteínas son estables a temperatura ambiente, lo cual permite obviar la necesidad de establecer y mantener una cadena de frío; una de las limitaciones económicas más importantes para la distribución de las vacunas en muchas regiones geográficas de PVD. Sin embargo, no se puede obviar el principal desafío en la obtención de compuestos antigénicos en sistemas vegetales es que éstos conserven su integridad estructural, actividad funcional y niveles de expresión adecuados, para inducir una respuesta inmune protectora en el organismo que los ingiere.

6. PLANTAS COMO BIOFACTORÍAS: VACUNAS COMESTIBLES

6.1. LA APLICACIÓN DE LA BIOTECNOLOGÍA EN EL DESARROLLO DE VACUNAS

Una de las áreas donde el impacto de la Biotecnología ha sido mayor, es sin duda la salud y dentro de esta, la obtención y producción de nuevas vacunas ha supuesto una verdadera revolución, debido a que las enfermedades infecciosas continúan siendo el contratiempo más importante en los países en vías de desarrollo.

En el caso de algunas vacunas, se plantean ciertas limitaciones técnicas, ya que existen patógenos para los que no es posible la obtención de vacunas por las rutas clásicas de inactivación y/o atenuación (como por ejemplo el virus del SIDA). En este sentido, el desarrollo de la Biotecnología está permitiendo la creación de una nueva generación de vacunas que pretenden reducir o eliminar los inconvenientes que presentan las vacunas clásicas (Genoma España/CIBT-FGUAM, 2004; SEBIOT, 2000).

Para el diseño de las nuevas vacunas, o vacunas de nueva generación, se parte del conocimiento detallado de la biología del patógeno. Con esta base, se inactivan o mutan selectivamente sólo aquellos genes no deseados implicados en la virulencia, o se potencian selectivamente aquellas características de inmunogenicidad favorables para la preparación de la vacuna (Genoma España/CIBT-FGUAM, 2004).

Al contrario que las vacunas clásicas, en el caso de las vacunas de nueva generación se conoce en detalle la composición molecular de la vacuna, lo que garantiza la seguridad de la vacuna y aumenta la estabilidad biológica, eliminando, entre otras, la posibilidad de que el agente infeccioso atenuado pueda revertir por mutación a la forma virulenta, como podría suceder con las vacunas vivas atenuadas. También se están desarrollando otro tipo

de vacunas como las formadas por partículas virales vacías, sin capacidad replicativa, es decir, que no contienen ADN o ARN, y vacunas producidas en plantas transgénicas mediante la expresión de proteínas recombinantes de gran interés terapéutico.

El constante avance de la biotecnología moderna ha impactado en el desarrollo de nuevas vacunas en tres aspectos fundamentales:

- Nuevas formas de producción de vacunas,
- Nuevas presentaciones antigénicas, y
- Nuevas estrategias de obtención y diseño de vacunas.

En la actualidad, se está trabajando intensamente en las denominadas “vacunas verdes” conjugando tecnologías de modificación genética en plantas con la expresión a gran escala de proteínas con carácter inmunológico. Este aspecto, es extremadamente interesante debido a que las plantas son sistemas atractivos para la producción de proteínas terapéuticas, tanto por sus beneficios económicos, como por los mínimos riesgos que presentan para la salud.

Aunque de forma paralela, existen otros sistemas de expresión, como las bacterias y los hongos, éstos no son demasiado adecuados para la obtención de proteínas que necesiten modificaciones postransduccionales. En esta línea, las diferencias existentes entre los sistemas vegetales y los sistemas de cultivos celulares de mamíferos son mínimas, en comparación con los que existen entre las células de mamíferos y los microorganismos, de ahí, que las plantas puedan constituir una vía de elección con relación a los sistemas basados en células procariotas para la obtención de proteínas con carácter inmunológico.

Los sistemas vegetales de expresión de proteínas inmunológicas, tienen una ventaja adicional relacionada con la contaminación cruzada interespecie, por eso son una alternativa interesante para la producción de vacunas. En este sentido, cabe destacar, que las plantas modificadas genéticamente no son hospedadores naturales de microorganismos patógenos, ni para el hombre ni para los animales, de ahí, que las contaminaciones se consideren menores de las que podrían darse si se utilizaran sistemas en microorganismos o en cultivos celulares de mamífero.

Otra ventaja adicional la constituye el hecho de que muchas partes de dichos sistemas vegetales almacenan de forma estable durante largos periodos de tiempo proteínas que pueden ser ingeridas directamente desde la propia planta, produciendo una respuesta inmune en el individuo, sin necesidad de extracción ni purificación de las mismas. Este fenómeno inmunológico se consigue mediante la ingestión de las llamadas “vacunas comestibles”.

6.2. DEFINICIÓN DEL TÉRMINO “VACUNA COMESTIBLE”

Según la Sociedad Española de Biotecnología, este término suele aplicarse al “*uso como vacuna de las partes comestibles de las plantas (tubérculos, frutos, hojas, etc.) modificadas genéticamente (transgénicas) o infectadas con un virus vegetal, con el fin de que produzcan componentes específicos (antígenos) de un patógeno (virus, bacteria, etc.) contra el cual se desea proteger a una persona o animal*” (SEBIOT, 2000).

La producción de proteínas recombinantes con capacidad antigénica o antígenos en plantas modificadas genéticamente tiene las ventajas del bajo coste y de la ausencia de peligros de contaminación con otros patógenos del hombre o del animal que va a ser vacunado (Stephan *et al.*, 2003). Pero esto pierde valor cuando para obtener la vacuna se precisan costosos procesos de purificación, de conservación y de administración del antígeno.

Por esta razón, la situación ideal es aquella en la que se consigue una vacunación eficiente con la ingestión directa de la planta que produce el antígeno. A este hecho es al que le corresponde el concepto de “**vacuna comestible**” (Mason, *et al.* 2002; Rubio, 2004).

A día de hoy ya existen ejemplos que demuestran que este planteamiento es factible, ya que se ha demostrado que la ingestión de patatas transgénicas (*Solanum tuberosum*) que producen antígenos apropiados de la bacteria *Escherichia coli* y de los virus de la hepatitis B

o de *Norwalk*¹, inducen una respuesta inmunológica en voluntarios humanos, que en algunos casos es protectora (Mason *et al.*, 1996; Ma *et al.*, 1998, 2003; Tacket *et al.*, 2000). De todas formas, aun es necesario depurar esta tecnología para que se puedan utilizar estas vacunas de forma generalizada (figura 6.1).

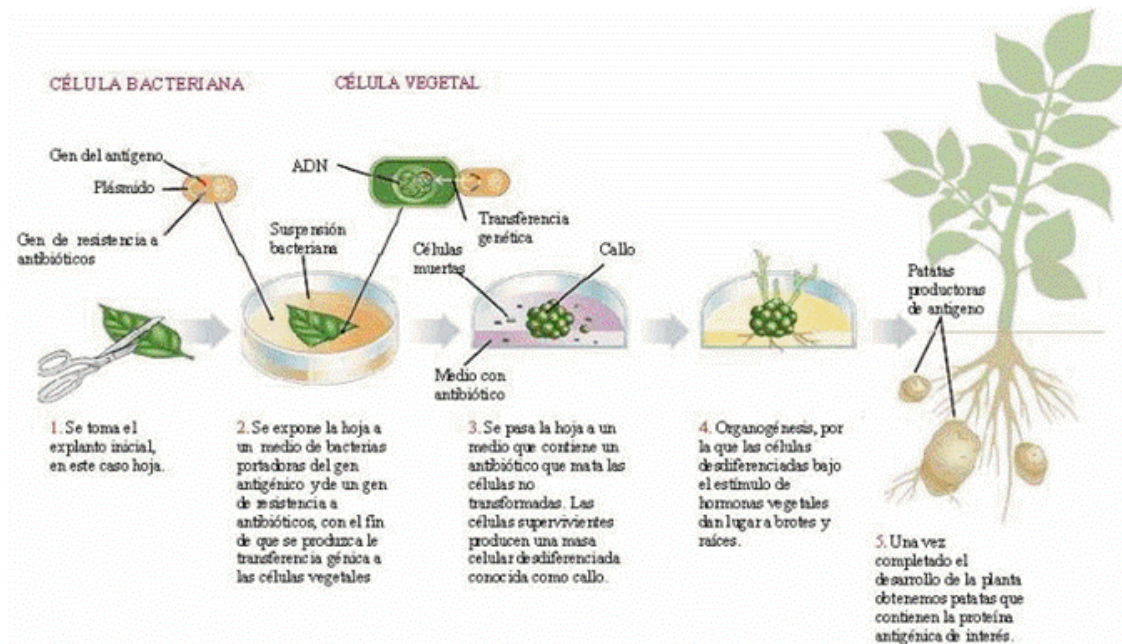


Figura 6.1 Proceso de obtención de patata productora de antígeno.

Fuente: Rubio, 2004. Vacunas comestibles

¹Norwalk: La infección del virus de Norwalk es una enfermedad gastrointestinal que ocurre esporádicamente o en brotes. El virus se identificó inicialmente durante un brote de gastroenteritis en Norwalk, Ohio, en 1972. Actualmente se conocen distintas cepas que se incluyen en el género *Norovirus* de la familia *Caliciviridae*.

6.3. HISTORIA Y EVOLUCIÓN DE LAS VACUNAS COMESTIBLES

Esta idea, se debe al investigador Charles Arntzen, biólogo estadounidense, quien en un viaje a la India, se planteó la posibilidad de inmunizar a la población frente a enfermedades como la hepatitis B, el cólera o el SIDA, utilizando frutas, como los plátanos (*Musa acuminata*), que abundan en los países en vías de desarrollo y se consumen crudos (May *et al.*, 1995; Clendennen *et al.*, 1998; Ganapathi *et al.*, 2001). Como fruto de aquella primera idea, Charles Arntzen consiguió introducir en plantas de tabaco el gen de una proteína del virus de la hepatitis B capaz de estimular el sistema inmunitario con unos niveles de expresión aceptables de dicha proteína activa (Arntzen *et al.*, 1994).



Foto 1 Dr. Charles Arntzen

Alrededor de 1995 Arntzen y sus colegas habían demostrado que efectivamente, las plantas podían producir antígenos capaces de activar la respuesta inmune (Thanavala *et al.*, 1995). En el año 2000, en un experimento en que se usaron patatas modificadas genéticamente (*Solanum tuberosum*) para producir la proteína de superficie del virus de la hepatitis B, se logró que ratas alimentadas con estas patatas presentaran una respuesta inmune similar a la que causaría el virus entero (Richter *et al.*, 2000; Kong *et al.*, 2001).

Según la Organización Mundial de la Salud, se calcula que en el mundo existen ya más de 2000 millones de personas infectadas con hepatitis B, enfermedad que además de dañar el hígado puede contribuir al cáncer hepático.

Más tarde, gracias a posteriores investigaciones, se consiguieron patatas, tomates y otras plantas capaces de producir los antígenos del virus *Normalke* causante de diarreas (Tacket *et al.*, 2000), del virus del SIDA, de la bacteria del cólera (*Vibrio cholerae*), y del virus de la rabia (*Lyssavirus*). Hay que considerar que cada año más de 5 millones de personas se enferman de cólera, 200.000 de ellas no logran sobrevivir y, en el caso de la rabia, 60.000 personas al año mueren a causa de esta enfermedad.

Actualmente, los desarrollos relativos a la modificación genética de plantas con la finalidad de obtener vacunas comestibles van orientados fundamentalmente a cinco grupos vegetales: tejidos foliares, tubérculos, hortalizas, frutas y cereales (tabla 6.1 y tabla 6.2), ya que uno de los fines para los que se han desarrollado las vacunas comestibles, es para el consumo de partes crudas de plantas que sean agradables al paladar del que las ingiere y que no necesiten ser procesadas.

La producción de diversos antígenos en plantas transgénicas es un hecho demostrado desde hace años (Arntzen *et al.*, 1994. Fooks, 2000; Gómez Lim, 2001). Y en los últimos años se ha demostrado que la idea de administrar frutos o tubérculos de plantas modificadas genéticamente que contienen proteínas recombinantes con capacidad antigénica capaces de generar una respuesta inmune en el individuo es totalmente viable (Mor, 2004; Peterson y Arntzen, 2004).

Las vacunas comestibles junto con el arroz dorado, actualmente, constituyen una de las esperanzas más recientes y de las herramientas más importantes con las que cuenta la controvertida industria biotecnológica, para enfrentarse a un público escéptico al que debe convencer de las bondades que supone la ingeniería genética para los enfermos y para paliar el hambre existente en los PVD.

Tabla 6.1 Proteínas antigénicas para vacunas humanas expresadas en plantas modificadas genéticamente

Tipo de cultivo	Planta	Órgano	Proteína	Aplicación
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénico ^a
	Lechuga	Hojas		
	Tubérculos	Patata		
Cereales	Maíz	Semillas		
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas	Subunidad A estructural del BFP	Vacuna contra <i>E. coli</i> enteropatógeno ^b
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas	Subunidad B de la toxina colérica	Vacuna contra <i>Vibrio cholerae</i> ^c
Hortalizas	Tomate	Hojas y frutos		
	Patata	Tubérculo		
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas	Antígeno de superficie	Vacuna contra la Hepatitis B ^d
	Lechuga	Hojas		
Tubérculos	Patata	Tubérculo		
Hortaliza	Tomate	Hojas		
Tubérculos	Patata	Tubérculo	Antígeno de la cubierta	Vacuna contra el Virus <i>Norwalk</i> ^e
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas		

a. Haq *et al.*, 1995; Gómez Lím, 2001, Lamphear *et al.*, 2002; Kim TG *et al.*, 2007.
b. Tregoning *et al.*, 2004; Srinivas *et al.*, 2008.
c. Gomez Lím, 2001; Kim, *et al.*, 2004.
d. Kapusta *et al.*, 1999; Kong *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2002; Thanavala 2001; Thanavala *et al.*, 1995.
e. Mason *et al.*, 1996; Tacket *et al.*, 2000; Tacket, 2005.

Tabla 6.1 Proteínas antigénicas para vacunas humanas expresadas en plantas modificadas genéticamente
(continuación)

Tipo de cultivo	Planta	Órgano	Proteína	Aplicación
Tejidos foliares	Lechuga	Hojas	Proteína H	Vacuna contra el virus del Sarampión ^f
Tejidos foliares	Espinaca	Hojas	Péptidos de la glicoproteína y nucleoproteína	Vacuna contra Virus de la rabia ^g
Tejidos foliares	Tabaco	Cloroplastos		
Hortalizas	Tomate	Hojas Frutos		
Tejidos foliares	Espinaca	Hojas	Péptidos antigénico	Vacuna contra el antrax ^h
Tubérculos	Patata	Tubérculo	Péptido de la región V3 de la proteína gp120 fusionada con la subunidad B de la toxina colérica.	Vacuna contra VIH ⁱ
Tejidos foliares	Tabaco	Cloroplastos	Fragmento TetC de la toxina colérica	Vacuna contra <i>Clostridium tetani</i> ^j
<p>f. Webster <i>et al.</i>, 2002 g. McGarvey <i>et al.</i>, 1995; Ruf <i>et al.</i>, 2001; Yusibov <i>et al.</i>, 2002. h. Sussman, 2003 i. Wu <i>et al.</i>, 2003. j. Tregoning <i>et al.</i>, 2004.</p>				

Tabla 6.2 Proteínas antigénicas para vacunas animales expresadas en plantas modificadas genéticamente

Tipo de cultivo	Planta	Órgano	Proteína	Aplicación
Hortalizas	Tomate	Hojas Frutos	Glicoproteína	Vacuna contra el virus de la rabia ^a
Cereal	Alfalfa	Hojas	Péptido de la proteína estructural VP1 fusionado a β -glucuronidasa	Vacuna contra la Fiebre aftosa ^b
Hortalizas	Patata	Tubérculo	Glicoproteína S	Vacuna contra el coronavirus de la gastroenteritis transmisible porcina ^c
Cereal	Maíz	Semillas		
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas		
Tubérculos	Patata	Tubérculo	Proteína estructural VP60	Vacuna para la Enfermedad hemorrágica de los conejos ^d
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas	Péptido 2L21 fusionado con la subunidad B de la toxina colérica	Vacuna contra Parvovirus canino ^e
Tejidos foliares	Tabaco	--	Epítipo neutralizador	Vacuna contra virus de la diarrea epidémica porcina ^f
Tubérculos	Patata	Tubérculo	Proteína S de IBV	Vacuna contra virus de la bronquitis infecciosa aviar ^g
Tejidos foliares	Tabaco	--	Hemaglutinina	Vacuna contra peste bovina ^h
Leguminosas	Cacahuete	Hojas		
Tejidos foliares	Tabaco	Hojas Cloroplastos	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénico ⁱ
Tubérculos	Patata	Tubérculo		
Cereales	Maíz	Semillas		

a. McGarvey *et al.*, 1995; Ruf *et al.*, 2001.

b. Wigdorovitz *et al.*, 1999

c. Streatfield *et al.*, 2003.

d. Streatfield *et al.*, 2003

e. Molina *et al.*, 2004.

f. Bae *et al.*, 2003.

g. Zhou *et al.*, 2004.

h. Khandelwal *et al.*, 2003.

i. Haq *et al.*, 1995; Gómez Lim, 2001.

**7. ASPECTOS CIENTÍFICOS DE LAS
VACUNAS COMESTIBLES COMO
MODELO DE VACUNACIÓN**

Hoy en día la biotecnología moderna es, junto con el sector de las energías renovables, la tecnología estratégica del siglo XXI, encontrándose en pleno auge gracias al descubrimiento de nuevas técnicas que ofrecen grandes esperanzas terapéuticas y alimentarias.

La industria dedicada a la biotecnología moderna se inició en los Estados Unidos, y su liderazgo indiscutible en el comercio mundial de producción biotecnológica se basa fundamentalmente en la existencia de un entorno financiero dispuesto a invertir en este sector, creación de empresas en base biotecnológica de un tamaño adecuado y el apoyo indiscutible del gobierno americano al I+D en Biotecnología a través de programas orientados al fomento de la transferencia tecnológica y a la creación de nuevos centros de investigación dedicados al avance intelectual en biotecnología.

Desde el comienzo, la evolución de biotecnología aplicada a la salud humana ha sido la más rápida, tanto en el campo de la terapéutica como en el del diagnóstico de enfermedades gracias al interés que suscitan las nuevas terapias y al poco rechazo social que tienen estas tecnologías por parte de la sociedad. Por otro lado, en lo que se refiere a la modificación vegetal o Agrobiotecnología, la biotecnología moderna supone una ampliación de la mejora tradicional de plantas mediante la posibilidad de introducir en su genoma información genética perfectamente definida procedente de otras especies. Estos avances tecnológicos han supuesto una ruptura de las barreras que tenía la selección tradicional en lo que se refiere a las posibilidades genéticas y a la rapidez del proceso.

Sin embargo, de nuevo la implantación de estas tecnologías ha sido muy diferente según el entorno geográfico, así en los Estados Unidos se han aprobado para su comercialización y cultivo más de veinticinco variedades de plantas modificadas genéticamente y por el

contrario, en Europa se han aprobado menos de diez variedades, entre las que destacan cuatro tipos de maíz, todos ellos tolerantes a herbicidas. Esta diferencia de implantación se hace más grande cuando la Agrobiotecnología se emplea para producir compuestos activos de interés biofarmacéutico como hormonas, enzimas, proteínas inmunológicas o vacunas comestibles, lo que se conoce en términos anglosajones como *Biopharming* ó *Molecular Pharming* (Larrick y Thomas, 2001).

Durante el periodo 1998 a 2005, han cobrado especial importancia los sistemas vegetales transgénicos como plataformas para la producción de vacunas comestibles (Ma *et al.*, 1998, Loza-Rubio y Gómez Lim, 2006). Una de las ventajas que reportan estos sistemas vegetales es que la producción de proteínas antigénicas en plantas comestibles es considerablemente más económica que la producción de dichas proteínas en bacterias, hongos, células de insectos o cultivos celulares de mamífero.

Como se ha mencionado anteriormente, ejemplos de las sustancias de uso terapéutico de interés que actualmente se obtienen por expresión en sistemas vegetales son hirudina, seroalbúmina, encefalinas, interferones, insulina humana, lactoferrina y dos de los medicamentos más costosos de la industria farmacéutica: el factor de crecimiento de los macrófagos y la glucocerebrosidasa, una proteína cuya carencia es responsable de una enfermedad genética (Cebadera y Cámara, 2005b).

Las sustancias terapéuticas obtenidas varían mucho dependiendo del sistema utilizado del mismo modo que los distintos parámetros de producción de las mismas (tabla 7.1).

Tabla 7.1 Comparación de diferentes sistemas de expresión: plantas, levaduras, microorganismos y sistemas animales.

Parámetros	Plantas transgénicas	Virus/Planta	Levaduras	Bacterias	Cultivos celulares de mamíferos	Animales transgénicos
Costes de almacenamiento	↓ (Tª ambiente)	↓ (- 20°C)	↓ (- 20°C)	↓ (- 20°C)	↑	↑
Distribución	Fácil	Fácil	Factible	Factible	Difícil	Difícil
Tamaño del gen insertado	No limitado	Limitado	¿?	¿?	Limitado	Limitado
Glicosilación	≈ Correcta	≈ Correcta	Incorrecta	No hay	Correcta	Correcta
Proteínas multiméricas (SigA)	Sí	No	No	No	No	Sí
Escala de producción	Gran escala	Gran escala	Limitado	Limitado	Limitado	Limitado
Costes de producción	↓	↓	Medio	Medio	↑	↑
Propagación	Fácil	Factible	Fácil	Fácil	Difícil	Factible
Calidad del plegamiento de proteínas	≈ ↑	≈ ↑	Media	↓	↑	↑
Homogeneidad proteica	≈ ↑	Media	Media	↓	Media	↑
Rendimiento	↑	↑↑↑	↑	Medio	≈ ↑	↑
Percepción social del riesgo	↑	↑	Medio	↓	Medio	↑
Seguridad	↑	↑	¿?	↓	Media	↑
Costes de escalado	↓	↓	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑
Riesgo terapéutico*	¿?	¿?	¿?	Sí	Sí	Sí
Tiempo para su puesta a punto	Medio	↓	Medio	↓	↑	↑

Basada en Fischer & Emans, 2000 y Goldstein and Thomas, 2004.

*Secuencias virales residuales, oncogenes o endotoxinas.

En este sentido, las vacunas comestibles –entendidas como un tipo concreto de producto obtenido por técnicas de *Molecular Pharming*- han conseguido interponerse social y científicamente entre el concepto de medicamentos biotecnológicos y el de alimentos biotecnológicos, creando un escenario controvertido en el que compiten intereses sociales contrapuestos en lo que se refiere a la aceptación o rechazo de esta tecnología (Cebadera y Cámara, 2007).

Este aspecto se agudiza, si tenemos en cuenta que el objetivo de las vacunas comestibles fundamentalmente estriba en favorecer el acceso a estos “*medicalimentos*” a núcleos poblacionales poco favorecidos como los PVD. Por eso, hace unos años la Organización Mundial de la Salud impulsó un programa científico internacional para fomentar el desarrollo y madurez científico-técnicos de este tipo de tecnología.

Desde entonces, se está trabajando en el desarrollo de sistemas de expresión efectivos en sistemas vegetales accesibles para países emergentes que se cultivan de forma generalizada y que pueden ingerirse crudos, lo cual permite producir vacunas comestibles frente a las enfermedades incluidas en el Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI) de la OMS: difteria, tétanos, tos ferina, sarampión, polio y tuberculosis, ampliándose a hepatitis B, fiebre amarilla y determinadas diarreas virales.

La idea de las vacunas comestibles es desarrollar alimentos modificados genéticamente que posean en su composición el antígeno que procure la estimulación del sistema inmune al ser consumido. Es decir que, al ingerir el alimento en la dosis indicada, se administra la vacuna y por consiguiente se previene la enfermedad (Cebadera y Cámara, 2005a).

La mayor ventaja que poseen estas vacunas es que se administran por vía oral, y que permiten la producción a gran escala a nivel local, utilizando los cultivos regionales y variedades autóctonas. Esto permite el acceso masivo a la vacunación, incluso en zonas poblacionales alejadas de un sistema sanitario estructurado y accesible.

Esta posibilidad de acceso a la vacunación para PVD es fundamental considerando los datos proporcionados por el último estudio publicado en el año 2009 por la Organización Mundial de la Salud titulado “Vacunas e inmunización: situación mundial”. Según este informe, si no se generaliza el uso de las vacunas en un promedio de más del 90% de la población mundial, en el año 2015 se sumarían por año más de dos millones de muertes de niños y niñas menores de cinco años por enfermedades infecciosas.

En este escenario sanitario ofrecido por la OMS, las vacunas comestibles proporcionarían una solución económica y accesible desde el punto vista tecnológico para países emergentes. Además, este estudio hace especial énfasis en que la obtención de vacunas se encuentra en una fase dinámica y que cada vez llegan a un número mayor de personas, siendo la inmunización uno de los pilares fundamentales de la salud pública.

7.1. SISTEMAS DE EXPRESIÓN DE COMPUESTOS BIOFARMACÉUTICOS EN PLANTAS

Los desarrollos actuales en relación con los avances en vacunas comestibles van orientados fundamentalmente a conseguir aumentar los niveles de expresión del compuesto de interés en el tejido vegetal y conseguir que se expresen dichos compuestos en diferentes tipos de cultivos como tejidos foliares, cereales, leguminosas, frutas, hortalizas y oleaginosas.

Aunque existen una serie de factores importantes a tener en cuenta a la hora de realizar la elección del cultivo (como el rendimiento, la estabilidad del tejido en el que se expresa la proteína, el coste de almacenaje y distribución, riesgos ambientales, etc.) no existe una norma general que establezca cual es el cultivo de elección para cada proteína, aunque sí existen distintos factores que se pueden tener en cuenta para elegir un cultivo como biofactoría, como son los siguientes (Gómez Lim, 2001):

- Disponibilidad de protocolos de transformación que permitan expresar la proteína que se desea obtener de la forma más sencilla y económica posible.
- Velocidad de escalado.
- Rendimiento del cultivo por unidad de superficie cultivada.
- Rendimiento de expresión de la proteína de interés por unidad de superficie cultivada.
- Costes económicos de los cultivos en sí mismos.
- Existencia de infraestructuras que permitan la recolección vegetal y el procesado del producto.
- Estabilidad de la proteína recombinante en el tejido en el que se acumula.

- Costes de almacenamiento y transporte de los órganos o tejidos donde se expresa la proteína.
- Costes de purificación.
- Presencia de sustancias tóxicas que hay que eliminar en el procesado de la proteína recombinante.
- Riesgos ambientales y contaminaciones cruzadas.
- Cómoda manipulación genética.
- Inocuidad del producto final, ya que los sistemas vegetales no son huéspedes de patógenos que infecten a humanos.

Una vez seleccionado el tipo de cultivo, en función del órgano o tejido en el que se desee expresar la proteína recombinante se deberán utilizar los promotores más adecuados para conseguir la mejor expresión posible.

Los cultivos más estudiados hasta el momento en función del tejido en el que se expresa la proteína son los siguientes:

7.1.1. Plantas de hoja y forrajeras

En este grupo de cultivos se incluyen aquellas plantas en las que se produce la acumulación de proteínas en la parte aérea de la planta, principalmente en el tejido foliar, como es el caso del tabaco, alfalfa, lechuga o soja, entre otros.

Las ventajas que presentan este tipo de plantas, en general, son el elevado rendimiento en biomasa, el gran potencial para escalado que poseen y la existencia de infraestructura para

su procesado. El inconveniente principal que presentan es debido al elevado contenido en agua que posee el tejido foliar que hace que las proteínas sean inestables y pueda producirse una disminución del rendimiento (Molina *et al.*, 2004; Twyman *et al.*, 2003).

Actualmente, se han obtenido de forma eficaz proteínas recombinantes antigénicas útiles para la creación de vacunas comestibles humanas en los que los niveles de expresión de la proteína soluble total son útiles para inducir respuesta inmune (tabla 7.2).

El cultivo más estudiado en este caso es el tabaco, principalmente por la facilidad que presenta para ser transformado, ya que existen distintos protocolos de expresión de proteínas recombinantes que pueden usarse de manera rutinaria en este cultivo (Genoma España / CIAA-PCM, 2005).

El tabaco (*Nicotiana tabacum*), es un cultivo que presenta una gran importancia en biotecnología de plantas, ya que se emplea como modelo de experimentación debido a la facilidad con la que es transformado, además este factor unido a que existen numerosos protocolos de expresión de proteínas recombinantes, lo convierten en el cultivo más utilizado en agricultura molecular (Ma *et al.*, 2003). En el tabaco, la mayor parte de las veces se utiliza la técnica de transformación del núcleo, sin embargo en los últimos años se vienen empleando tecnologías de transformación de cloroplastos utilizando la técnica de bombardeo con microprojectiles o transformación biolística.

Existen otras especies de planta de hoja que expresan proteínas recombinantes en sus partes aéreas, como la lechuga y la espinaca (Sussman, 2003), que presentan la ventaja frente al tabaco de ser comestibles facilitando la expresión de compuestos antigénicos en vacunas comestibles, como se observa en la tabla 7.2.

Tabla 7.2 Niveles de expresión de proteínas con aplicaciones para vacunas humanas y animales expresadas en tejidos foliares

Niveles de expresión	Planta	Órgano	Proteína	Aplicación
0,001-0,75%PST	Tabaco	Hojas Cloroplastos	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénico ^a
8%PST	Tabaco	Hojas	Subunidad A estructural del BFP	Vacuna contra <i>E. coli</i> enteropatógeno ^b
4%PST	Tabaco	Hojas	Subunidad B de la toxina colérica	Vacuna contra <i>Vibrio cholerae</i>
0,07%PST	Tabaco	Hojas	Antígeno de superficie	Vacuna contra la Hepatitis B ^d
0,2%PST	Tabaco	Hojas	Antígeno de la cápside	Vacuna contra el Virus <i>Normalke</i> ^e
25%PST	Tabaco	Cloroplastos	Fragmento TetC de la toxina colérica	Vacuna contra <i>Clostridium tetani</i> ^f
--	Lechuga	Hojas	Antígeno de superficie	Vacuna contra la Hepatitis B ^g
1-2% PST	Lechuga	Hojas	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénico ^h
389,5 ng/g	Tomate	Hojas	Antígeno de superficie	Vacuna contra la Hepatitis B ⁱ
--	Espinaca	Hojas	Péptidos de la glicoproteína y nucleoproteína	Vacuna contra Virus de la rabia ^j
--	Espinaca	Hojas	Péptidos antigénico	Vacuna contra el ántrax ^k

a. Tregoning *et al.*, 2004; Wagner, *et al.*, 2004b. Tregoning *et al.*, 2004.c. Gómez Lim, 2001; Kim *et al.*, 2004.d. Kapusta *et al.*, 1999; Kong *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2002; Thanavala, 2001; Thanavala *et al.*, 1995.e. Mason *et al.*, 1996; Tacket *et al.*, 2000.f. Tregoning *et al.*, 2004.g. Kapusta *et al.*, 1999.h. Kim *et al.*, 2007.i. Srinivas *et al.*, 2008.j. Yusibov *et al.*, 2002.

k. Sussman, 2003.

PST: *Proteína Soluble Total*

7.1.2. Cereales y leguminosas

En este tipo de cultivos se incluyen plantas en las que la acumulación de la proteína recombinante se realiza en las semillas como es el caso de las leguminosas de grano y los cereales. Estos cultivos se caracterizan por producir semillas que presentan un elevado contenido de proteínas, que pueden secarse fácilmente y almacenarse a temperatura ambiente sin pérdida de propiedades durante muchos meses, debido a que presentan un ambiente protector frente a la degradación proteica.

Tabla 7.3 Niveles de expresión de proteínas con aplicaciones para vacunas humanas expresadas en cereales y leguminosas

Niveles de expresión	Planta	Órgano	Proteína	Aplicación
10% PST	Maíz	Semillas	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénico ^a
2% PST	Maíz	Semillas	Glicoproteína S	Vacuna contra el coronavirus de la gastroenteritis transmisible porcina ^b
31,5 ng/g	Arroz	Semillas	Antígeno de superficie	Vacuna contra la Hepatitis B ^c
2,4% PST	Soja	Semillas	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénico ^d
2,1% PST	Arroz	Semillas	Proteína CT-B de la toxina B de cólera	Vacuna contra el cólera ^e

a. Tregoning *et al.*, 2004.

b. Streatfield *et al.*, 2003.

c. Qian *et al.*, 2008.

d. Moravec *et al.*, 2007.

e. Oszvald *et al.*, 2008.

PST: Proteína Soluble Total

La utilización de promotores específicos de semillas hace que la producción en este tipo de cultivos pueda llegar a ser muy elevada y que la expresión de proteínas recombinantes antigénicas sea también más elevada (tabla 7.3). Los cereales en los que más se ha investigado son arroz, trigo y maíz, y entre las leguminosas destacan el guisante, alfalfa y la soja.

7.1.3. Frutas, tubérculos y hortalizas

En este grupo se incluyen plantas en las que la acumulación de la proteína recombinante se realiza en órganos comestibles de la planta, que pueden consumirse crudos o con un procesado mínimo, y que, principalmente están más al alcance del paciente o consumidor.

El interés de expresar proteínas recombinantes en órganos comestibles visibles es la accesibilidad del paciente a la vacuna comestible. Los cultivos que más se han estudiado para expresar proteínas antigénicas son la banana, la patata y el tomate (tabla 7.4).

Tabla 7.4 Niveles de expresión de proteínas con aplicaciones para vacunas humanas expresadas en frutas y hortalizas.

Niveles de expresión	Planta	Órgano	Proteína	Aplicación
--	Tomate	Fruto	Antígeno de la cápside	Vacuna para el Virus <i>Norwalk</i> ^a
1% PST	Tomate	Hojas Frutos	Glicoproteína	Vacuna contra el virus de la rabia ^b
0,081-0,04% PST	Tomate	Hojas y frutos	Subunidad B de la toxina colérica	Vacuna contra <i>Vibrio cholerae</i>
0,3% PST	Patata	Tubérculo		
0,006% PST	Patata	Tubérculo	Antígeno de superficie	Vacuna para la Hepatitis B ^d
0,2% PST	Patata	Tubérculo	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénica ^e
23,4-97,1 ng/g	Patata	Tubérculo	Antígeno de superficie	Vacuna para la Hepatitis B ^f
0,4% PST	Patata	Tubérculo	Antígeno de la cápside	Vacuna para el Virus <i>Norwalk</i> ^g
0,0041% PST	Patata	Tubérculo	Péptido de la región V3 de la proteína gp120 fusionada con la subunidad B de la toxina colérica.	Vacuna contra VIH ^h
--	Zanahoria	Tubérculo	Subunidad B de la toxina termolábil	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénica ⁱ
--	Banana	Frutos	Antígeno de superficie	Vacuna para la Hepatitis B ^j

a. Zhang *et al.*, 2006.

b. McGarvey *et al.*, 1995; Ruf *et al.*, 2001.

c. Kong *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2002; Thanavala, 2001; Jiang *et al.*, 2007.

d. Mason *et al.*, 1996; Tacket *et al.*, 2000.

e. Haq *et al.*, 1995; Gómez Lim, 2001

f. Sunil Kumar *et al.*, 2008.

g. Tregoning *et al.*, 2004.

h. Kim *et al.*, 2004.

i. Rosales-Mendoza *et al.*, 2008.

j. Sunil Kumar *et al.*, 2005.

PST: Proteína Soluble Total

7.2. PROBLEMÁTICA DE LAS VACUNAS COMESTIBLES

Como se ha comentado anteriormente, la vacunación a gran escala se enfrenta fundamentalmente a dos problemas:

- los altos costes de producción de las vacunas.
- el riesgo de que la distribución en lugares remotos y de difícil acceso no sea adecuada.

Normalmente, las vacunas disponibles en el mercado se administran por vía parenteral, sin embargo, la OMS ha recomendado en diversas ocasiones buscar alternativas para sustituir a las inyecciones, debido a que se ha encontrado en algunos países que hasta un 30% de éstas se realizan con jeringas no estériles, hecho de gran relevancia considerando el grave problema del SIDA en los países en vías de desarrollo.

La administración de vacunas vía oral es muy buena alternativa para las vacunas vía parenteral, en gran parte, por razones de bajo coste y por su fácil administración evitando la vía parenteral que es mucho más agresiva y traumática (Gómez Lim, 2001). Asimismo, con las vacunas orales se incrementa la probabilidad de adquirir inmunidad en mucosas contra los agentes infecciosos que entran en el cuerpo a través de este tipo de superficies.

Sin embargo, uno de los problemas que hasta ahora sigue presentándose es que, la vía oral no es la mejor vía de vacunación, dado que la cantidad de antígeno necesaria para una inmunización eficiente por vía oral suele ser elevada (Sala *et al.*, 2003; Stein y Webber, 2001) necesitándose además, la coadministración de un adyuvante que estimule la respuesta inmune (Padidam, 2003). Por otro lado, también es importante destacar que los niveles de acumulación de antígeno en plantas transgénicas suelen estar por debajo de los

necesarios para que la mera ingestión de la planta suministre la dosis de vacuna adecuada, así como, la irregular acumulación del antígeno en las diferentes partes de las plantas, dificulta un control adecuado de las dosis (Lerouge *et al.*, 2000; Maliga, 2002), pero estos son los aspectos que se pretenden resolver con las últimas investigaciones sobre esta materia.

Otra cuestión a considerar es si la aplicación de ésta tecnología supone o no una alteración en la composición del alimento en comparación con el alimento tradicional de referencia e incluso si pueden contener sustancias que produzcan efectos indeseables en el organismo humano (Cámara y Cebadera, 2009).

Para establecer la inocuidad de un alimento nuevo o componente alimentario, se ha llegado a un acuerdo internacional que compara la “equivalencia substancial” del alimento nuevo con su análogo tradicional (en el caso que exista). Para ello se estudian aspectos como: características físico-químicas y composición química, conocimiento del componente nuevo introducido, el método de transformación y modo de expresión del nuevo material genético (FAO, 2004; IFT 2000).

Además, hay que considerar la posible degradación de los antígenos en el estómago e intestino antes de que puedan inducir una respuesta inmune. Para protegerlos de la degradación se han desarrollado varios métodos. Entre éstos se encuentran el uso de cepas recombinantes de microorganismos atenuados, de vehículos de encapsulación, tales como liposomas y finalmente las plantas transgénicas obteniendo las denominadas vacunas comestibles.

Algunos ejemplos que ilustran la variedad de antígenos expresados en plantas transgénicas han mostrado en las tablas 7.3 y 7.4, para humanos y animales respectivamente. Los antígenos derivados de plantas mostrados en estas tablas han inducido respuestas inmunes a nivel de mucosas y de suero cuando han sido administrados tanto por vía parenteral como por vía oral en animales de laboratorio y, en varios experimentos, han logrado proteger al hospedador contra el patógeno de forma efectiva (Mason *et al.*, 2002; Lauterslager *et al.*, 2002).

De la misma manera, se han realizado exitosamente varias pruebas clínicas con voluntarios humanos en las cuales los antígenos consumidos por vía oral del tejido vegetal fueron capaces de inducir una respuesta inmune significativa (Gómez Lim, 2001; Tuboly *et al.*, 2000). Por esta razón, se considera que las vacunas obtenidas a partir de plantas modificadas genéticamente tienen un gran potencial. Por ejemplo, la encapsulación de la subunidad B de la toxina lábil de *E. coli* en maíz transgénico indujo una fuerte respuesta inmune en ratones, en comparación con la alcanzada con el antígeno desnudo que fue más débil. Probablemente, esto se debió a que el antígeno estaba protegido contra la degradación en el intestino y de ahí la eficacia al ser administrado en tejido vegetal.

La producción de vacunas a partir de plantas, denominadas vacunas comestibles, tienen una serie de ventajas e inconvenientes, tal y como se indica a continuación:

Ventajas:

- Desarrollar sistemas vegetales es más económico.
- Elevada seguridad biológica (evita la transmisión de enfermedades a través de vía parenteral).

-
- Ya está disponible la tecnología para cosechar y procesar plantas y sus productos a escala industrial.
 - El requisito de la purificación del compuesto de interés, en algunos casos, puede ser eliminado cuando el tejido de la planta que contiene la proteína recombinante se utiliza como alimento.
 - Se puede dirigir a las proteínas recombinantes a determinados compartimentos intracelulares, o expresarlos directamente en esos compartimentos (por ejemplo, a los cloroplastos).
 - Es posible expresar más de un antígeno por planta, pudiendo administrarse varias vacunas de forma simultánea.
 - La expresión del compuesto de interés en órganos vegetales se da a temperatura ambiente, lo que permite prescindir de la cadena de frío y por tanto reducir los costes logísticos.

Inconvenientes:

- La dosificación de la vacuna (para establecer la dosis adecuada sería necesario conocer el peso y la edad del paciente, el tamaño e incluso el grado de maduración de la fruta).
- No se podrá prescindir del papel del vacunador o el administrador de la vacuna a un paciente.
- La ingestión del producto en estado natural (crudo) es una ventaja, pero de todos es sabido que con el calor las proteínas se desnaturalizan, por lo que la elevada temperatura es un factor que hay que controlar.
- Hay plantas que tardan varios años en crecer y dar frutos (ej: el plátano).
- El contenido proteínico de algunas frutas es muy pequeño (ej: banana).

- Hay frutas que se estropean muy rápidamente. (ej: plátano) y como consecuencia el transporte se ve dificultado así como el almacenamiento.
- Se tienen dudas de poder conseguir traducir la expresión de proteínas recombinantes con capacidad antigénica en la respuesta inmunológica deseada en las personas o en los animales.
- Niveles de expresión insuficientes del compuesto de interés.

7.3. ESTRATEGIAS PARA AUMENTAR LOS NIVELES DE EXPRESIÓN

Existen múltiples consideraciones técnicas que son importantes para conseguir elevados niveles de expresión de las diferentes proteínas terapéuticas, que van desde el control de las modificaciones transcripcionales, hasta el control de los cambios que se producen en el destino subcelular en el que se expresa la proteína de interés.

En el caso de los sistemas vegetales, el patrón de glicosilación de proteínas y el proceso de N-glicosilación difiere del de los animales, por lo que para proteínas terapéuticas destinadas a la administración *in vivo* debe analizarse en detalle el patrón de glicosilación (Bardor *et al.*, 2003). Para llevar a cabo el control de la glicosilación de la proteína expresada existen múltiples estrategias, entre las que destacamos: el direccionamiento de las proteínas hacia compartimentos subcelulares y la optimización de los genes insertados.

Los niveles de expresión de proteínas recombinantes en plantas pueden mejorarse mediante la correcta selección de la proteína y mediante mecanismos de direccionamiento celular. En el caso de ciertos anticuerpos expresados en plantas, se han observado aumentos significativos de proteína recombinante cuando dichos anticuerpos se dirigen al espacio intercelular en lugar del citosol (Conrad y Fiedler, 1998). En este sentido, los autores Conrad y Fiedler observaron que, cuando se orienta la secreción de la proteína recombinante al espacio intercelular que se encuentra debajo de la pared celular (apoplasto), los niveles de expresión de dicha proteína aumentan obteniendo rendimientos entre 10 y 100 veces mejores (Conrad y Fiedler, 1998).

Las proteínas recombinantes se han dirigido durante los últimos 20 años a diferentes compartimentos celulares, como son el espacio intercelular, cloroplastos y retículo

endoplasmático (RE) (Ma *et al.*, 2003; DeWilde *et al.*, 2002; Conrad y Fiedler, 1998). Sin embargo, unas estrategias han sido mucho más fructíferas que otras, aunque es importante señalar que cada estrategia depende mucho del tipo de proteína recombinante que se desea expresar.

La obtención de una cantidad de proteína suficientemente elevada en el tejido vegetal es de especial importancia en el caso de las vacunas comestibles (Twyman *et al.*, 2003). Siendo necesario además, en numerosas ocasiones, que la proteína que se obtiene sea estructuralmente idéntica a la proteína nativa (figura 7.1).

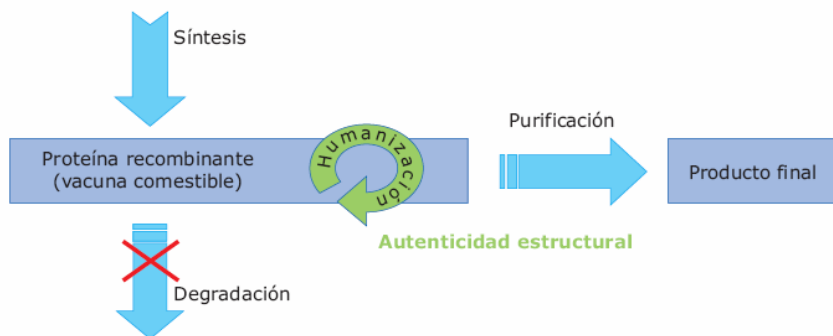


Figura 7.1 Estrategia tecnológica para conseguir autenticidad estructural

Fuente: Genoma España / CIAA-PCM, 2005

Las estrategias para conseguir una síntesis proteica elevada se centran principalmente en aumentar la expresión génica mediante un diseño cuidadoso del transgén que se va a introducir. En cuanto a la protección contra la degradación, la principal estrategia consiste en el direccionamiento de las proteínas hacia compartimentos celulares en los que se encuentren protegidas de la degradación (Genoma España / CIAA-PCM, 2005).

A continuación se indican las estrategias que han sido desarrolladas a día de hoy y que permiten aumentar el rendimiento de la producción de proteínas en plantas y asegurar la autenticidad estructural.

Aumento de la síntesis de proteína recombinante

Para obtener una elevada producción de la proteína recombinante, en primer lugar es necesario que la expresión de los genes introducidos sea elevada. El material genético que se introduce en la planta incluye el gen o genes que codifican para la proteína de interés junto con secuencias reguladoras que permiten que estos genes se expresen correctamente y den lugar a la proteína. Para optimizar la expresión del gen introducido, es necesario elegir de manera adecuada estas secuencias. Las principales secuencias reguladoras de la expresión son secuencias promotoras, secuencias terminadoras y otras secuencias como secuencias líder e intrones (Sala *et al.*, 2003).

Otra de las estrategias se centra en el silenciamiento de algunos genes de interés, aspecto a tener en cuenta a la hora de diseñar una planta transgénica, ya que puede dar lugar a la ausencia de expresión de alguna proteína recombinante. La transformación de cloroplastos es la principal estrategia para eliminar este tipo de silenciamiento, ya que la inserción del transgén no se produce al azar, sino que ocurre por recombinación homóloga en lugares determinados (Genoma España / CIAA-PCM, 2005).

Disminución de la degradación de proteína recombinante

La síntesis de las proteínas nativas de la planta se produce en el citosol de la célula, donde pueden ser liberadas o bien dirigirse hacia otros compartimentos celulares. Una de las estrategias para evitar la degradación de la proteína sintetizada en el tejido vegetal es el

direccionamiento hacia compartimentos celulares u orgánulos en los que ésta se encuentre protegida.

El direccionamiento de proteínas se lleva a cabo mediante secuencias denominadas péptidos señal que se encuentran en la proteína y que contienen información sobre el lugar hacia el que se debe dirigir (Lessard, *et al.*, 2002). Los compartimentos celulares que presentan un ambiente favorable para el almacenamiento de proteínas hacia los que se puede realizar un direccionamiento de las mismas son el retículo endoplasmático, las vacuolas y los cloroplastos (Genoma España / CIAA-PCM, 2005).

Existe otra estrategia para proteger a las proteínas de la degradación que es la acumulación en semillas, dado que son órganos de la planta que presentan un alto contenido en proteínas y un ambiente protector contra la degradación de las mismas debido a su bajo contenido en humedad. La acumulación en este órgano puede realizarse mediante el uso de promotores específicos de semillas.

Optimización de la purificación de la proteína expresada

Esta es una de las ventajas que presentan las vacunas comestibles, en las que el producto de interés que se produce en la planta y puede utilizarse directamente sin purificar, ya que la expresión de las proteínas se produce directamente en los tejidos comestibles de las mismas. Esta ventaja permite reducir los costes de extracción y de purificación que son muy elevados, pudiendo llegar a constituir el 95% del coste total de producción de la proteína de interés.

7.4. LAS VACUNAS COMESTIBLES EN FASE DE INVESTIGACIÓN

Uno de los nuevos enfoques experimentales en vacunas comestibles va orientado al estudio del efecto de diferentes antígenos y anticuerpos en el tracto digestivo, concretamente a través del intestino delgado, aprovechando la existencia de órganos y células especializadas que captan antígenos desde el lumen del tubo digestivo pasándolo a una región del epitelio donde hay un sistema inmune específico en donde se genera una respuesta inmune local que produce una protección inmune también local.

Concretamente el experimento más avanzado en este campo ha sido la obtención de vacunas comestibles en patatas. Los resultados de las investigaciones con animales que han ingerido estas patatas transgénicas han demostrado que es posible producir inmunidad frente a la enfermedad hemorrágica del conejo (Streatfield *et al.*, 2003). En humanos también se ha probado recientemente y, aunque ha funcionado, la patata suele descartarse porque su consumo normalmente va precedido de un tratamiento térmico que podría desnaturalizar las proteínas antigénicas, provocando una pérdida de sus propiedades inmunogénicas.

Otras investigaciones están siendo orientadas al estudio de la cantidad de tejido vegetal que constituye una dosis de vacuna comestible, ya que ésta debe ser pequeña. Por ello, es muy importante alcanzar altos niveles de expresión del antígeno en el tejido vegetal, ya que este es el problema más importante que posee este tipo de vacunas (Twyman *et al.*, 2003).

Otro aspecto importante que está siendo estudiado, no es solamente que se llegue a expresar una cantidad de proteína suficiente, sino que además la proteína obtenida sea

estructuralmente idéntica a la proteína nativa (Genoma España / CIAA-PCM, 2005). En los últimos años se han utilizado diferentes estrategias para aumentar los niveles de expresión de los transgenes; por ejemplo, utilizando diversas señales de regulación de la expresión genética, así como optimizando el uso de codones. Los niveles de expresión también se podrían elevar a través de cruces de líneas transformadas con líneas establecidas y bien caracterizadas, estrategia que se ha aplicado con éxito para aumentar la producción de proteína total en maíz.

También es importante, como se ha mencionado anteriormente, que cualquier antígeno esté presente en su forma nativa en el tejido vegetal. Este aspecto normalmente se evalúa examinando el tamaño de la proteína sintetizada, su capacidad de formar las estructuras adecuadas (por ejemplo, partículas tipo virus) y, cuando sea relevante, su actividad enzimática o de unión a un receptor.

La estabilidad de las proteínas heterólogas y el ensamblaje de estructuras multiméricas, dependen en buena medida, de la localización subcelular. Hasta ahora, los principales lugares en donde se han expresado antígenos son la superficie celular, el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi (Jakob *et al.*, 1998). Por el momento, estos espacios celulares han permitido la producción de antígenos funcionales; sin embargo, hay sugerencias para probar otros compartimentos celulares, como por ejemplo los cloroplastos (Daniell *et al.*, 2002; Fernández-San Millán *et al.*, 2003; Leelavathi y Reddy, 2003).

Una estrategia relacionada con la de la obtención de vacunas comestibles, es la que se fundamenta en la producción de plantas transgénicas que expresan autoantígenos, por lo que una dosis oral de un autoantígeno puede inhibir el desarrollo de una enfermedad

autoinmune (alteración que sobreviene cuando el sistema inmune de los individuos afectados produce anticuerpos contra moléculas de su propio organismo (llamados autoantígenos) a través del mecanismo de tolerancia en el individuo. Éste ha sido el enfoque utilizado exitosamente en un modelo de diabetes en ratón (Ramírez *et al.*, 2003).

Actualmente se está trabajando con antígenos que van desde diversos epítomos de *Plasmodium falciparum*, hasta antígenos de rotavirus, hepatitis B, SIDA y algunos antígenos de cáncer (Bardor *et al.*, 2003; Biemelt *et al.*, 2003). Se intenta inducir una respuesta inmune de tipo celular específica utilizando como coadyuvantes moléculas de citoquinas y quimiocinas que induzcan preferentemente interferón gamma. Esta estrategia ya ha sido utilizada anteriormente, aunque no con plantas ni por vía oral, sino por vía parenteral, por lo que actualmente supone un reto científico en el campo de las vacunas comestibles (Fischer y Emans, 2000; Fischer *et al.*, 2004).

Utilizando esta estrategia, se espera no solamente inducir una respuesta inmune, sino influir en el tipo de respuesta. En los trabajos científicos publicados hasta el momento, por lo general se ha inducido una respuesta inmune de tipo humoral, que no siempre es la más efectiva contra infecciones parasitarias o virales. El reto mencionado en el campo de las vacunas comestibles, consiste en el estudio y desarrollo de fórmulas adecuadas para generar la respuesta más efectiva para este tipo de infecciones.

En general, los niveles de expresión de las proteínas con aplicación farmacéutica producidas en plantas transgénicas ha sido menor al 1% de la proteína soluble total (PST). Este límite del 1% es muy importante para una posible aplicación comercial, sobre todo si la proteína se tiene que purificar. Por ejemplo, el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B indujo solamente una respuesta de bajo nivel en anticuerpos séricos en un

estudio en voluntarios humanos, lo que refleja probablemente el bajo nivel de la expresión (1-5 ng/g de peso fresco) en lechuga transgénica (Gómez Lim, 2001).

A pesar de mejoras recientes en niveles de expresión en patata, con vistas a ensayos clínicos, éstos se deben aumentar aún más para propósitos prácticos. Por ello, aunque la proteína de la cápside del virus *Nonvark* expresada en patata induce inmunización cuando se consume por vía oral, los niveles de expresión son demasiado bajos para la administración oral a gran escala (0,4% de proteína soluble total).

La expresión de los genes que codifican para antígenos u otro tipo de proteínas humanas en plantas transgénicas ha sido muy baja, por ejemplo los niveles de albúmina humana obtenidos son de aproximadamente 0,020% PST; los de proteína C humana de aproximadamente 0,001% PST; de eritropoyetina unos 0,003% PST; y de interferón β humano menos de 0,001% PST. Por ello, a pesar de que existen varios estudios para conseguir aumentar estos niveles de expresión, hay una necesidad imperiosa de encontrar mecanismos eficientes para aumentar dichos niveles y que por consiguiente permitan su producción comercial en plantas. No obstante, en la actualidad ya se están realizando ensayos clínicos que demuestran que es factible el empleo de diferentes variedades de vegetales como vacunas comestibles, y solo queda un paso para su aprobación comercial por la FDA en los próximos años (tabla 7.5).

Tabla 7.5 Niveles de expresión de proteínas con aplicaciones para vacunas humanas expresadas en plantas modificadas genéticamente

Niveles de expresión (% PST)	Planta	Órgano	Aplicación
0,01	Tabaco	Hojas Cloroplastos	Vacuna contra <i>E. coli</i> enterotoxigénico ^a
0,2	Patata	Tubérculo	
10	Maíz	Semillas	
1-2	Lechuga	Hojas	
8	Tabaco	Hojas	Vacuna contra <i>E. coli</i> enteropatógeno ^b
4	Tabaco	Hojas	Vacuna contra <i>Vibrio cholerae</i> ^c
0,04	Tomate	Hojas y frutos	
0,3	Patata	Tubérculo	
0,006	Patata	Tubérculo	Vacuna contra la Hepatitis B ^d
0,07	Tabaco	Hojas	
0,4	Patata	Tubérculo	Vacuna contra el Virus <i>Normalke</i> ^e
0,2	Tabaco	Hojas	
25	Tabaco	Cloroplastos	Vacuna contra <i>Clostridium tetani</i> ^f
0,0041	Patata	Tubérculo	Vacuna contra VIH ^g
1	Tomate	Hojas Frutos	Vacuna contra el virus de la rabia ^h

- a. Haq *et al.*, 1995; Gómez Lim, 2001 ; Kim *et al.*, 2007.
b. Tregoning *et al.*, 2004.
c. Gomez Lim, 2001; Rigano y Walmsley, 2004.
d. Kapusta *et al.*, 1999; Kong *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2003; Smith *et al.*, 2002.
e. Thanavala, 2001; Thanavala *et al.*, 1995.
f. Mason *et al.*, 1996; Tacket *et al.*, 2000.
g. Tregoning *et al.*, 2004.
h. Saldaña *et al.*, 2006.

7.4.1. Vacunas comestibles en investigación clínica

Las vacunas comestibles, al igual que otros medicamentos obtenidos por biotecnología, constituyen una clase terapéutica emergente en clínica, que presenta unas características diferenciales no sólo por su origen, sino también por su estructura química y algunas propiedades farmacológicas. Por ello, es absolutamente necesario estudiar el comportamiento farmacológico a través de ensayos preclínicos y clínicos en humanos.

En este sentido, en los últimos años se ha comprobado que antígenos derivados de plantas han inducido respuestas inmunes a nivel de mucosas y de suero cuando han sido administrados tanto por vía parenteral como por vía oral en animales de laboratorio y, que dichas administraciones han dado lugar a la producción de anticuerpos como respuesta inmunológica. De la misma manera, actualmente se están realizando exitosamente varias pruebas clínicas con voluntarios humanos, en las cuales los antígenos consumidos por vía oral por consumo directo de tejido vegetal fueron capaces de inducir una respuesta inmune significativa.

Sin embargo, la estructura química que presentan la mayoría de este tipo de antígenos condiciona algunas propiedades que pueden dificultar su utilización terapéutica y que se reflejan en su perfil farmacocinético y, entre ellas, destacan la baja biodisponibilidad por vía oral, debido a su inestabilidad en el medio fuertemente ácido del estómago, al efecto producido por las peptidasas intestinales y, especialmente, a su escasa permeabilidad como consecuencia del tamaño molecular, la carga eléctrica y la elevada polaridad (Norris *et al*, 1998).

Por esta razón, la bioencapsulación de algunas proteínas antigénicas es una de las estrategias estudiadas desde un punto de vista tecnológico para protegerlas de la degradación en el tracto gastrointestinal, como por ejemplo la estrategia de bioencapsular la subunidad B de la toxina lábil de *Escherichia coli* en maíz modificado genéticamente induciendo una fuerte respuesta inmune en ratones, en comparación con la alcanzada con el mismo antígeno desnudo. Por otro lado, dado que es difícil controlar las dosis de ingestión de los diferentes antígenos en la porción de tejido vegetal que se ingiere y, más aun, si se seleccionan para un ensayo clínico con humanos, la cantidad de tejido vegetal que constituye una dosis de vacuna debe ser pequeña. Por ello, es muy importante alcanzar altos niveles de expresión del antígeno en el tejido vegetal.

7.4.1.1. Vacuna contra el virus de la Hepatitis B

Los sistemas vegetales productores de proteínas de interés terapéutico utilizados como vacunas comestibles, ofrecen múltiples posibilidades para reducir apreciablemente enfermedades como la hepatitis B y aumentando la calidad de vida de aquellos pacientes que sufren dicha enfermedad. Estas vacunas que actualmente se encuentran en fases preclínicas y clínicas son obtenidas por ingeniería genética (Cebadera y Cámara, 2005).

Los ensayos realizados en humanos por el Instituto Nacional de Alergia y Enfermedades Contagiosas (NIAID), del Ministerio de Sanidad y Seguridad Social de los EEUU, muestran cómo las vacunas comestibles son ya una realidad, ya que la empresa biotecnológica americana ProdiGene, tiene en marcha un estudio con este tipo de vacunas para enfermedades víricas como la hepatitis y el virus transmisible de gastroenteritis (Cebadera y Cámara, 2005; Mishra *et al.*, 2008).

Expresión en plantas de tabaco

Los últimos estudios realizados en plantas de tabaco han demostrado cómo plantas de tabaco transgénico son capaces de expresar de forma estable un poliepítipo HIV-1 asociado con hepatitis B. Estos estudios demuestran cómo es perfectamente posible la administración oral de estas plantas transgénicas a ratones humanizados y cómo existe un equilibrio entre tolerancia e inmunogenicidad que demuestran el uso de plantas transgénicas como vacunas comestibles (Kapusta *et al.*, 1999; Kong *et al.*, 2001; Ramírez *et al.*, 2003; Richter *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2002; Thanavala, 2001).

El grupo de investigación de Kostrzak *et al.*, en 2009 publicó un estudio en el que comparaban la respuesta de antígenos HBsAg obtenidos a partir de plantas de tabaco administrados con y sin coadyuvante estimulante de mucosas. Así, se demostró que, a pesar de lo indicado en casi todos los estudios, para el caso de los antígenos HBsAg obtenidos a partir de plantas de tabaco mediante su tecnología, la inmunización oral dio lugar a respuestas humorales comparables a los obtenidos mediante la inmunización con el adyuvante. Además, observaron que la respuesta no siempre es dosis dependiente, encontrando que tras la administración de HBsAg aumentó el nivel en sangre de las células T reguladoras forma lineal hasta alcanzar una meseta a dosis altas de antígeno. De este modo pudieron correlacionar la mayor respuesta humoral IgA e IgG con la dosis más baja de antígeno (0,5 ng), mientras que para inmunización con coadyuvante las mejores respuestas de anticuerpos se obtuvieron con dosis de antígeno mayor. Estos resultados, sin duda sugieren que las vacunas orales frente a la hepatitis B obtenidas a partir de plantas modificadas genéticamente de tabaco pueden no requerir el uso de coadyuvante aparte de poder utilizar menor cantidad de antígeno expresado, lo que se traduce en una dosis menor.

Expresión en plantas de lechuga

Los datos más actuales indican que la Academia Polaca de Ciencia ha desarrollado una vacuna contra el virus de la Hepatitis B en plantas de lechuga que se encuentra en Fase I de investigación (Spök, 2007).

Expresión en plantas de tomate

Un estudio reciente muestra cómo se ha podido utilizar el tomate de la variedad *Megha* para obtener a partir sus hojas la expresión de un antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. El nivel máximo de expresión obtenido en las hojas de dicha variedad de tomate fue de 489,5 ng/g. La expresión de dicho antígeno en los frutos de tomate también se confirmó con las técnicas RT-PCR y análisis ELISA. Este, aparentemente, es el primer informe que confirma los niveles de expresión de forma estable del antígeno de superficie de la hepatitis B en el tomate (Srinivas *et al.*, 2008).

Expresión en plantas de arroz

En agosto de 2008 investigadores chinos demostraron que existe la posibilidad de producir una vacuna comestible para hepatitis B en plantas de arroz. Esta vacuna contiene el antígeno de superficie (HBsAg) del virus modificado de hepatitis B. La presencia del gen SS1 en el genoma de arroz transgénico fue confirmada por PCR y por análisis Southern blot, lo cual indica que el antígeno se expresó específicamente en semillas de arroz, con el nivel más alto de expresión en torno a 31,5 ng/por peso de grano seco. La respuesta inmunológica estudiada en ratones inmunizados con la proteína de recombinante SS1, indicó que esta proteína expresada en arroz puede ser un candidato prometedor como vacuna alternativa para prevenir la hepatitis B (Qian *et al.*, 2008).

Expresión en plantas de patata

En mayo de 2006 los investigadores Sunil Kumar *et al.*, 2006 demostraron que existe un nivel de expresión óptimo del antígeno de superficie de Hepatitis B (HBsAg) en modelos de planta de patata. Los modelos de planta estudiados fueron patatas con y sin raíces peludas. Dichos estudios demostraron por los métodos PCR y ELISA la transgénesis de dichas plantas así como unos niveles de expresión adecuados y estables en el tiempo. Los niveles de expresión medidos tanto en plantas de patata, como en micro tubérculos como en raíces peludas, fueron de 19,11 ng/g, 23,94 ng/g y 97,1 ng/g, respectivamente.

Por otro lado, investigaciones realizadas por Zahmanova *et al.*, en 2008, han mostrado cómo empleando la nucleocápside del virus de la Hepatitis B (Hbc153) en tubérculos de patata se obtienen niveles de expresión adecuados. Los niveles de expresión, aunque son menores que otros estudios anteriores, son los adecuados ya que la nucleocápside del virus tiene una elevada capacidad inmunogénica y tiene la propiedad de poder auto-ensamblarse a otras partículas similares a dicho virus.

Como resultado, el estudio realizado en ratones alimentados con patatas transgénicas Hbc153 demostró una ligera respuesta inmune a los veintinueve días de administración, mediante la determinación en suero de inmunoglobulina G (IgG).

Los Investigadores Thanavala y Lugade en 2010, han realizado un estudio en ratones comparando el efecto de HBsAg obtenido a partir de levaduras y a partir de plantas de patata. Para evaluar la inmunogenicidad oral de los tubérculos de patata, los ratones fueron alimentados con trozos de patata pelada una vez por semana durante tres semanas consecutivas. Cada ratón recibió 5 g de tubérculo (que contiene un promedio de 42 µg de HBsAg por dosis) por toma. Adicionalmente fue utilizada la toxina colérica (TC) como

adyuvante para estimular la mucosa. De este modo el grupo control, fue aquel al que se le administraron patatas no transformadas pero sí TC.

Los resultados mostraron cómo a los ratones alimentados con patatas OMGs que expresaban HBsAg, la vacuna provocó una respuesta primaria (con un pico máximo de 100 mUI/ml) y una respuesta secundaria muy intensa y sostenida (con un pico máximo 3.000 mUI/ml). Este estudio establece la exigencia de un coadyuvante de la mucosa, y también demostró que la inmunogenicidad se pierde sustancialmente tras la cocción de las patatas, lo que indica que para que las vacunas tengan un efecto terapéutico óptimo es necesario que la parte comestible sea fresca y sin procesar.

Los resultados clínicos más representativos (fase II) se han obtenido por la empresa Azbio de Arizona para prevención de la Hepatitis B, con antígenos de superficie HBsAg expresados en patata (IPTS, 2008).

7.4.1.2. Vacuna contra gastroenteritis causadas por el virus Norwalk

El virus de Norwalk es considerado como la principal causa de enfermedad gastrointestinal producida por alimentos en mal estado y agua contaminada en el mundo. El virus de Norwalk recibió este nombre en 1968, cuando casi cien estudiantes de una escuela de Norwalk, en Ohio, presentaron simultáneamente síntomas de náuseas, vómitos, calambres en el estómago y diarrea. Sin embargo, los científicos encargados de esta investigación tardaron cuatro años en comprobar que el patógeno causante de dichos síntomas era un virus.

Expresión en plantas de tabaco

Investigadores discípulos de Charles Arntzen, en mayo del año 1996 desarrollaron sistemas alternativos a los sistemas de cultivo celular para la producción de proteínas recombinantes buscando sistemas de expresión más seguros y vacunas con un coste menor. Para ello, utilizaron técnicas de ingeniería genética en plantas consiguiendo la expresión de compuestos antigénicos en órganos comestibles de las mismas para poder emplearlos como vacunas comestibles (Mason *et al.*, 1996). Experimentalmente, consiguieron crear plantas transgénicas de tabaco y de patata capaces de expresar la proteína de la cápside del virus Norwalk (rNV). Posteriormente, administraron por vía oral de forma comparativa a un lote de ratones, extractos de hoja de tabaco transgénico y, a otro lote, tubérculos de patata transgénica respectivamente que contenían el virus recombinante rNV.

Los resultados demostraron que los ratones tratados con el extracto de tabaco transgénico desarrollaron anticuerpos IgG e IgA en suero. Además, cuando a los ratones se les alimentó con los tubérculos de patata éstos desarrollaron IgG séricos específicos para rNV. Estos resultados indicaron claramente la posible utilidad de las plantas de producción de vacunas comestibles.

Expresión en plantas de patata

En el año 2000, los estudios realizados por el equipo de Tacket *et al.*, aportaron un nuevo enfoque a los resultados obtenidos hasta la fecha por Mason *et al.*, ya que probaron en humanos una vacuna comestible que pretendía paliar los efectos producidos por el Virus Norwalk (Tacket *et al.*, 2000).

Para este estudio se seleccionaron veinticuatro voluntarios adultos sanos que recibieron dos ó tres dosis de patata cruda transgénica ó tres dosis de patata cruda silvestre. Cada dosis administrada contenía 150 g de tubérculo de patata, pelado, cortado en cuadritos que contenían entre 215 - 751 μ g de proteína de la cápside del virus Norwalk.

Los resultados mostraron cómo diecinueve voluntarios de los veinte tratados con patata transgénica desarrollaron un aumento significativo en el número de anticuerpos IgA, cuatro voluntarios de los veinte desarrollaron anticuerpos específicos IgG en suero, y a seis de los veinte se les determinaron anticuerpos IgA en heces. El resultado general definitivo fue muy favorable, demostrando cómo diecinueve voluntarios de los veinte desarrollaron una respuesta inmune de algún tipo, a pesar de que el nivel de anticuerpos en suero no fue muy elevado.

Expresión en plantas de tomate

En julio de 2006 las investigaciones realizadas por el equipo de Zhang *et al.*, demostraron que era posible la expresión de una proteína de superficie (VLPs) de dicho virus recombinante (rNV) tanto en plantas de patata como en plantas de tomate. Adicionalmente, demostraron experimentalmente cómo la ingestión oral de dicha proteína de la cápside del virus confería una protección inmunológica en ratones (Zhang *et al.*, 2006).

Los ensayos se realizaron en diferentes lotes de animales a los que les administró de forma comparativa la hortaliza y el tubérculo desecados y los análisis de inmunogenicidad se realizaron por análisis de niveles de IgG e IgA en suero.

En el caso de los ratones que ingirieron el tubérculo de patata desecado, la respuesta fue menor que en el caso del tomate desecado. Posiblemente este resultado fue debido a la oxidación que se produce por rehidratación de los compuestos fenólicos de dicho tubérculo de patata, lo cual favorece la inestabilidad de la proteína VLP disminuyendo significativamente la inmunogenicidad de la misma.

Sin embargo, cuando se evaluaron los diferentes métodos de desecación se observó que en el caso de ratones alimentados con tomate desecado al aire libre la respuesta inmune fue bastante superior comparada con la administración del mismo tipo de tomate desecado por liofilización. Por esta razón, el contenido de rNV en tomate desecado al aire fue el agente inmunogénico más efectivo, basando estos resultados respecto a la misma cantidad de VLP ingerida en todos los casos. Estas conclusiones avalan el uso tomate estabilizado y desecado al aire como modelo de vacuna comestible para el caso de gastroenteritis producida por el virus Norwalk.

7.4.1.3. Vacuna contra la enteritis producida por E. Coli

Las infecciones gastrointestinales constituyen un problema mundial por su elevada incidencia y patogenicidad. La enfermedad diarreica aguda (EDA) en el 80% de los casos es provocada por cepas enterotoxigénicas de *E. coli* (ECET) solas o asociadas a rotavirus.

Se han realizado estudios en Fase I con administración en voluntarios sanos de patata transgénica cruda que expresa la subunidad B de la toxina lábil al calor de *Escherichia coli* (LT-B), originando resultados prometedores (Tacket, 2005). Por esta razón, los años 2007 y 2008 han sido especialmente fructíferos en relación a los estudios para esta enfermedad.

Expresión en granos de arroz

En marzo de 2007 los investigadores Oszvald *et al.*, observaron que las cepas enterotoxigénicas de *Escherichia coli* (ECET) son una de las causas más importantes de enfermedades entéricas que afectan a la ganadería y a los seres humanos. En sus experimentos evaluaron la capacidad de expresión de la subunidad B de la toxina lábil al calor de *Escherichia coli* (LT-B) en plantas de arroz transgénico. Los resultados obtenidos indicaron que el sistema de expresión de la planta de arroz es capaz de generar una importante cantidad de antígenos, lo que podría permitir el desarrollo exitoso de una vacuna comestible (Oszvald *et al.*, 2007).

Expresión en lechuga

Investigadores del equipo de Kim en enero de 2007 observaron que la subunidad B de la toxina lábil al calor de *Escherichia coli* (LT-B) induce una fuerte respuesta inmune y que por consiguiente puede utilizarse como coadyuvante para la coadministración de otros antígenos. Sus experimentos se centraron en plantas de lechuga (*Lactuca sativa*) como sistemas de expresión transformando sus células por el método de *Agrobacterium tumefaciens*. De este modo, pudieron detectar posteriormente el gen insertado sLT-B en el ADN genómico de las células transgénicas de lechuga por amplificación del ADN. A través del ensayo ELISA, pudieron detectar niveles de expresión de sLT-B aproximadamente de 1,0-2,0% del total de proteína soluble en la hoja de lechuga transgénica. Dichos resultados mostraron la posibilidad de obtener vacunas comestibles basadas en lechuga como modelo vegetal de expresión (Kim *et al.*, 2007).

Expresión en soja

Como en estudios anteriores sobre la materia, la subunidad B de la toxina lábil al calor de *E. coli* (LT-B) ha sido utilizada como modelo inmunogénico. En este estudio la expresión

de LT-B se dirigió al retículo endoplasmático de semillas de soja. Se obtuvieron unos niveles de 2,4% del total de proteína de la semilla de soja, que consiguieron mantener de forma estable en las mismas semillas desecadas. Los extractos de LT-B de soja se administraron por vía oral a ratones obteniendo niveles sistémicos detectables de IgG e IgA. Estos resultados demuestran la utilidad de la soja como una eficiente plataforma de producción de vacunas comestibles (Moravec *et al.*, 2007).

Expresión en zanahoria

Los últimos resultados obtenidos en este campo han sido los estudios realizados por Rosales-Mendoza y colaboradores en 2008. En sus investigaciones han estudiado cómo la ingestión de zanahorias transgénicas que expresan la subunidad B de la toxina termolábil de *Escherichia coli* protege a ratones Balb/C contra la toxina de cólera. Los experimentos se han llevado a cabo estudiando la ingestión de tres dosis semanales de 10 mg de LT-B derivadas de zanahoria transgénica.

Los extractos de LT-B de zanahoria se administraron por vía oral a ratones obteniendo niveles sistémicos detectables de IgG e IgA. Estos resultados demuestran que la ingestión de LT-B induce inmunidad intestinal y sistémica en ratones y sugieren que las zanahorias transgénicas que expresan LT-B pueden ser vacunas comestibles contra el cólera y la diarrea ECET en seres humanos (Rosales-Mendoza *et al.*, 2008).

7.4.1.4. Vacuna contra el cólera producido por *Vibrio cholerae*

Las enfermedades del tracto digestivo son la segunda causa de muerte a nivel mundial, sólo por debajo de las enfermedades respiratorias. Para conseguir una inmunización

efectiva contra este tipo de enfermedades infecciosas las vacunas deben reunir una serie de requisitos como la estabilidad a temperatura ambiente y accesibilidad a las mismas.

En esta línea, las vacunas producidas en plantas cumplen esos requerimientos probando en la actualidad la efectividad en inmunización de mamíferos contra rotavirus, enterotoxinas y toxinas del cólera. Algunos estudios han probado que antígenos bacterianos y virales pueden ser expresados en plantas con niveles suficientes para generar una protección sistémica y respuesta inmune a nivel de mucosas (Mason *et al.*, 1996).

Expresión en plantas de patata

William Langridge y sus colaboradores de la Escuela de Medicina de la Universidad de Loma Linda, crearon una patata transgénica insertando un gen que permite al tubérculo producir un componente no tóxico de la toxina del cólera (la subunidad CT-B de la toxina B de cólera). Esta porción de la toxina no solo une células en el intestino, sino que desencadena además la producción de anticuerpos contra el cólera.

Los ensayos experimentales en ratones, se realizaron alimentando a ratones con el tubérculo, que producía la CT-B y el sistema inmune produjo anticuerpos contra la enterotoxina de *Vibrio cholera*, la bacteria que causa el cólera. Los ratones vacunados, tras ser infectados con cólera tenían un 60% menos hinchado el intestino que los controles, lo cual disminuía a su vez el efecto general de la infección. Las dosis de recuerdo actuaron como un potenciador para los roedores, incrementando los niveles en sangre del anticuerpo inmediatamente.

En este mismo estudio los científicos cocinaron las plantas medicinales y observaron que al menos la mitad de la proteína que sirve de vacuna sobrevive en forma biológicamente

activa tras la aplicación de calor, por lo que se podría tomar en forma de puré de patatas u otra forma que requiera alta temperatura, lo que permite que se pueda ingerir a lo largo del tiempo ya que se deben tomar dosis de recuerdo periódicamente (Yu y Langridge, 2003).

Expresión en tomate

La subunidad CT-B de la toxina B se considera un antígeno capaz de desarrollar una respuesta contra el cólera. El estudio realizado por el equipo de Jiang en 2007 tuvo como objetivo desarrollar un tomate transgénico capaz de expresar la proteína CT-B. Se pudo comprobar por ELISA y Western blot que la planta transgénica contenía proteína CT-B en hojas, tallo, frutos y otros tejidos, obteniendo mayor cantidad en la fruta madura con unos niveles de 0,081% respecto de a la cantidad de proteína soluble total (Jiang *et al.*, 2007).

Expresión en granos de arroz

El estudio realizado por el equipo de Oszvald en 2008 se centró en el desarrollo de granos de arroz transgénicos que expresaban la proteína CT-B del cólera. El método utilizado fue el de biolística y la expresión de dichas proteínas se comprobó por PCR. Los resultados obtenidos por este equipo de investigación, fueron sorprendentes llegando a obtener niveles de expresión de CT-B de 2,1% sobre el total de proteína soluble en el endospermo de plantas de arroz transgénico (Oszvald *et al.*, 2008).

7.4.2. Proyecto Pharma-Planta

El proyecto Pharma-Planta es un consorcio de investigación que integra a diversas instituciones e industrias europeas y sudafricanas cuyo objetivo es conseguir que ciertas

plantas comestibles produzcan proteínas útiles en farmacología. Hasta la fecha, el consorcio Pharma-Planta, reúne a 39 equipos de investigación de siete países europeos y de Sudáfrica, y trabaja bajo la dirección del Instituto Fraunhofer de biología molecular y ecológica de Aix la Chapelle (oeste de Alemania) con la coordinación científica de la Escuela de Medicina del Hospital de Saint George de Londres (tabla 7.6).

Este proyecto, se creó para impulsar el cultivo e inmunización en poblaciones carentes de medios, debido a que las plantas modificadas genéticamente ofrecen la posibilidad de producción de medicinas a gran escala con bajos costes y pocas tareas de mantenimiento, lo cual las hace tremendamente atractivas para países en vías de desarrollo. Además, el hecho de que sean plantas comestibles permite que el fármaco se suministre en el momento en el que es preciso evitando largos procedimientos de purificación, lo cual constituye otra ventaja en comparación con la síntesis de fármacos tradicional.

El proyecto Pharma-Planta combina las competencias de varias disciplinas, entre ellas la inmunología y la botánica, para ofrecer perspectivas tangibles en este ámbito complejo relacionado con la obtención de compuestos con actividad biológica en el ser humano a partir de plantas modificadas genéticamente. Así mismo, a diferencia de otros métodos biotecnológicos de obtención de medicamentos, que requieren cultivos de células y microorganismos que precisan mucho personal, la obtención de plantas modificadas genéticamente para producir cierto gen con el que obtener un fármaco es mucho más barata y da acceso a un gran número de medicamentos y vacunas.

El objetivo fundamental de este proyecto, es elaborar estrategias eficaces y seguras para la producción de proteínas farmacéuticas para evaluación clínica a partir de plantas, así como, definir los procedimientos y métodos para la producción de estas proteínas en el cumplimiento de todas las normas establecidas para este fin. Por todo ello, la Unión

Europea destinó 12 millones de euros del Sexto Programa Marco de investigación de la Unión Europea (VIPM) para el desarrollo de este tipo de vacunas, promoviendo el hecho de que son hasta 100 veces más baratas que las tradicionales (Bruselas, comunicado de prensa de 15/07/04) y que facilitan la inmunización a los países más pobres para combatir enfermedades tan triviales como la rabia, la tuberculosis, la diabetes o el SIDA.

Tabla 7.6 Organizaciones del Proyecto Pharma-Planta*		
	Nombre de la institución	Localización
1.	Fraunhofer Institute of Molecular Biology and Applied Ecology (IME)	Aachen, Alemania
2.	St George's Hospital Medical School	Londres, Reino Unido
3.	Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule (RWTH)	Aachen, Alemania
4.	National University of Ireland	Maynooth, Irlanda
5.	John Innes Centre	Norwich, Reino Unido
6.	Centre de Cooperation Internationale en Research Agronomique pour le Development (CIRAD)	Paris, Francia
7.	Oxford Brookes University	Oxford, Reino Unido
8.	University of Warwick	Coventry, Reino Unido
9.	Universität für Bodenkultur (BOKU)	Vienna, Austria
10.	Polymun Scientific Immunbiologische Forschungs GmbH	Vienna, Austria
11.	Universita Degli Studi di Verona	Verona, Italia
12.	Ente per le Nuove Technologie, l'Energia e l'Ambiente (ENEA)	Roma, Italia
13.	Diamyd Medical AB	Estocolmo, Suecia
14.	Universite Blaise Pascal Clermont-Ferrand II	Aubiere, Francia

** Datos obtenidos de la web oficial del proyecto en Marzo 2010 (<http://www.pharma-planta.org/consortium.htm>)*

Tabla 7.6 Organizaciones del Proyecto Pharma-Planta* (continuación)	
Nombre de la institución	Localización
15. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)	París, Francia
16. University of Cambridge	Cambridge, Reino Unido
17. University of Glasgow	Glasgow, Reino Unido
18. Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg	Heidelberg, Alemania
19. Universite Catholique de Louvain	Louvain-la-Neuve, Bélgica
20. Council for Scientific and Industrial Research (CSIR)	Pretoria, Sudáfrica
21. Rothamsted Research	Harpenden, Reino Unido
22. University of Leeds	Leeds, Reino Unido
23. Consiglio Nazionale Delle Ricerche	Roma, Italia
24. Universite de Neuchatel	Neuchatel, Suiza
25. Max Planck Institute	Postdam, Alemania
26. Trinity College	Dublín, Irlanda
27. Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK)	Gatersleben, Alemania
28. Vlaams Interuniversitair Instituut voor Biotechnologie (VIB)	Zwijnaarde, Bélgica
29. Agricultural University of Athens	Atenas, Grecia
30. Mosaic Systems BV	Prinsenbeek, Holanda
31. Universidad de Lleida	Lleida, España
32. Sartorius-Stedim Biotech	Goettingen, Alemania

** Datos obtenidos de la web oficial del proyecto en Marzo 2010 (<http://www.pharma-plant.org/consortium.htm>)*

Como se aprecia en la tabla 7.6, existe una universidad española que forma parte de este consorcio y que es la universidad de Lleida (UdL) que, en la actualidad, mediante el Grupo de Biotecnología Vegetal Aplicada, del Departamento de Producción Vegetal y Ciencia Forestal está trabajando en un proyecto pionero que puede revolucionar la prevención y el

tratamiento del SIDA, enfermedad que padecen millones de personas en todo el mundo. Los investigadores de la UdL han producido, mediante ingeniería genética, la molécula proteica 2G12, uno de los anticuerpos más eficaces contra el VIH, en semillas de maíz.

Por el momento, el diseño de este “biomedicamento” no se ha concebido como vacuna comestible, sino que ha sido planteado en forma de pomada vaginal para su actuación como un microbicida, evitando la transmisión del virus del SIDA, por vía sexual. Este fármaco, que se encuentra en la primera fase de ensayo clínico, podría constituir una estrategia eficaz contra esta enfermedad, pues la molécula al obtenerse a partir de cultivos de maíz modificados genéticamente supone muy bajo coste de producción, y por lo tanto, podría aplicarse masivamente en África y otros PVD, donde la gran mayoría de afectados no tiene acceso a los tratamientos farmacológicos contra esta enfermedad.

El último hito más relevante de este proyecto, ha sido obtenido en 2009 por el grupo de investigación liderado por el profesor Mario Pezzotti, de la Universidad de Verona en Italia y se ha centrado en la obtención de interleucina 10 bioactiva a partir de plantas de tabaco para el tratamiento de ciertas enfermedades autoinmunes e inflamatorias. Los resultados obtenidos a nivel preclínico han sido muy prometedores; tanto que los científicos de este grupo esperan usar las plantas para determinar si el consumo continuado de pequeñas dosis podría ayudar a prevenir la diabetes mellitus tipo 1 (T1DM), en combinación con otros autoantígenos asociados con la enfermedad. Por todo lo comentado anteriormente, se puede afirmar que lo que en los años 90 eran simples experimentos científicos, es hoy en día una realidad que ofrece una alternativa principalmente a los países en vías de desarrollo para conseguir de una forma económica y accesible a toda la población una inmunidad a través de las mucosas frente a cada vez más afecciones.

7.5. BIOSEGURIDAD DE LOS PRODUCTOS AGROBIOTECNOLOGICOS

La modificación genética aplicada al sector agroalimentario se ha mostrado como una herramienta potente desde sus comienzos que ofrece numerosas ventajas como el incremento en la producción de algunos cultivos, la mejora nutricional de los alimentos para corregir deficiencias de la dieta, la obtención de cultivos resistentes a plagas, las mejoras en las características organolépticas y en la conservación de los alimentos, y la obtención de cultivos resistentes a estrés abiótico (Ulrich *et al.*, 2003).

En lo que se refiere a la interacción de estos sistemas modificados genéticamente con la salud humana, existe cierta preocupación por los riesgos potenciales que plantean los OMGs. Estos riesgos, en un principio, se asociaron a la posibilidad de transferir genes marcadores de resistencia a antibióticos contenidos en los OMGs a otros organismos potencialmente patógenos, a la transferencia de toxinas de un ser vivo a otro, a la creación de toxinas nuevas, o a la transferencia de compuestos alergénicos de una especie a otra, lo que podría dar lugar a reacciones alérgicas imprevistas.

Hasta hoy, no existen pruebas científicas de efectos adversos provocados por los OMGs, sin embargo, la falta de evidencia no significa que la población no tenga una percepción de dicho riesgo. Por ello, es responsabilidad de los gobiernos asegurar la bioseguridad de estos productos tanto para la salud humana como para el medio ambiente. Así, organismos internacionales como la OMS y la FAO recomiendan un sistema de evaluación con base científica para cada caso, que determine beneficios y riesgos, asegurando caso a caso y paso a paso, dicha bioseguridad.

La bioseguridad se define como el conjunto de políticas y procedimientos que se adoptan con el fin de garantizar la seguridad en las aplicaciones de la biotecnología. Se considera esencial que todo país que tenga un programa de biotecnología posea un sistema nacional de bioseguridad con el fin de regular la producción y liberación de OMGs y, garantizar el cumplimiento de las regulaciones en bioseguridad con el fin de estimular la aceptación pública y el consiguiente desarrollo de la biotecnología moderna.

Los instrumentos legales en bioseguridad son indispensables para facilitar el acceso a desarrollos biotecnológicos internacionales, ya que existe una especial preocupación en relación con la evaluación de dichos productos modificados genéticamente. Sin embargo, la evolución de políticas reglamentarias y de regulación en aquellos países que han acumulado mayor experiencia en productos biotecnológicos, presenta un patrón de rigurosidad, inflexibilidad y precaución iniciales, que han contribuido a que la sociedad tenga una percepción exacerbada de los posibles riesgos.

Las inquietudes surgidas en relación con las técnicas nuevas de la biotecnología moderna, se deben a su gran potencial a largo plazo y al gran número de nuevos productos, por lo que es fundamental proporcionar mecanismos regulatorios apropiados con el fin de garantizar que los productos obtenidos mediante el uso de las nuevas técnicas son tan seguros e inofensivos como los provenientes de la biotecnología tradicional.

Es esencial contar con un adecuado mecanismo de revisión y actualización, con el fin de garantizar la aplicación segura y eficaz de la biotecnología, considerando que el concepto de bioseguridad guarda una estrecha relación con aspectos como el riesgo y el impacto ambiental de los OMGs cuando son liberados al medio.

En esencia y de forma general, un modelo de evaluación de posibles riesgos de un OMG incluye aspectos como la identificación y caracterización de riesgos, la valoración de la escala y severidad de un posible impacto indeseado, un cálculo aproximado de la probabilidad de que suceda un impacto específico indeseado, la cuantificación del riesgo definido como la posibilidad de que ocurra un número de veces y la valoración del riesgo relativo. Es decir, evaluar la importancia del riesgo estimado frente al conjunto de posibles beneficios y costes. Una vez realizada dicha evaluación, se determinará caso a caso cada riesgo, de ahí la importancia de que existan medidas comunes de evaluación a escala internacional que faciliten la libre circulación de productos sin que se produzca una situación de conflicto.

En este sentido, se establecieron los principios del Protocolo de Cartagena sobre la Bioseguridad, instando específicamente a la aplicación del principio de precaución en lo que se refiere a los OMGs. Así, el concepto de precaución reconoce que la determinación del nivel de riesgo aceptable, depende del nivel de conocimientos, por ello expresamente alude a que la falta de conocimientos científicos o de consenso científico no se interpretarán necesariamente como indicadores de un determinado nivel de riesgo, de la ausencia de riesgo o de la existencia de un riesgo aceptable (Artículo III.4 del Protocolo).

La aplicación del enfoque de precaución al campo de la biodiversidad ha estado integralmente relacionada con la gestión del riesgo y la transparencia en la toma de decisiones.

El enfoque de precaución, sin embargo, no es el único principio trascendente en el cual se debe apoyar la toma de decisiones sobre la bioseguridad de los OMGs. En muchos países y contextos, otros principios son considerados igualmente pertinentes y son cada vez más

aceptados en la legislación y en las políticas internacionales, como el concepto de desarrollo sostenible.

Así, muchos países en vía de desarrollo establecen que no es apropiado aplicar únicamente el enfoque de precaución, sino que hay que ponerla en la balanza con otras necesidades (Katerere, 2001).

El enfoque de precaución estricto -aplicado en países desarrollados- es visto en muchas regiones en vías de desarrollo como una herramienta simplista, incapaz de abarcar un problema complejo como el de la bioseguridad. Por ello, cualquier decisión relativa al enfoque de precaución, necesita basarse en una evaluación que tome en cuenta no sólo cuestiones de incertidumbre y conservación, sino también los objetivos de la gestión de recursos.

De esta manera, los expertos de los PVD, de forma creciente, afrontan el principio de precaución como parte de las decisiones relativas a la gestión del riesgo, más que como un principio general establecido por el Protocolo de Cartagena. Por ello, utilizan el enfoque de precaución como una “pregunta umbral” para determinar si se procede o no a hacer una gestión del riesgo y evaluación de bioseguridad (Unión Mundial para la Naturaleza, 2004).

En resumen, el concepto de bioseguridad evoluciona –en cuanto a su interpretación y evaluación- en función de los avances científicos y socioeconómicos internacionales. Por ello, el campo de la bioseguridad es, un área con mucha actividad, a pesar de que es extremadamente controvertida, en la que es esencial que los responsables de la toma de decisiones y los que quieren superar el estancamiento técnico, demuestren un fuerte

compromiso para que, en ausencia de una suficiente certeza científica sobre la aplicación comercial de la biotecnología moderna, se impongan medidas preventivas y de precaución a nivel nacional e internacional, basadas en la evaluación y gestión del riesgo.

En el capítulo siguiente se revisan los aspectos regulatorios relativos a las vacunas comestibles haciendo una descripción detallada de aquellas normativas directamente relacionadas con la bioseguridad de estos productos.

**8. ASPECTOS REGULATORIOS
RELATIVOS A VACUNAS
COMESTIBLES**

El marco regulatorio europeo actual gobierna aspectos de diversa índole relacionados con la Biotecnología moderna que, interpretados de una forma global, se aplican a las vacunas comestibles, productos que hasta la fecha no están regulados como tal.

Dado que entendemos como vacunas comestibles al *“uso como vacuna de las partes comestibles de las plantas modificadas genéticamente o infectadas con un virus vegetal, con el fin de que produzcan componentes específicos de un patógeno contra el cual se desea proteger a una persona o animal”* (ver capítulo sexto), es inevitable interpretar en el sentido más amplio, este tipo de productos desde un punto de vista regulatorio. Por esta razón, el panorama legislativo en torno a las vacunas comestibles se puede abordar desde diferentes perspectivas, teniendo en cuenta que las vacunas comestibles se consideran alimentos y medicamentos modificados genéticamente, de forma conjunta.

De forma general se puede realizar una división de la legislación que, desde un punto de vista teórico, aplica a las vacunas comestibles:

- Desde el punto de vista de las modificaciones genéticas en vegetales: Las vacunas comestibles como OMGs.
- Desde el punto de vista de los alimentos: Las vacunas comestibles como nuevos alimentos.
- Desde el punto de vista de la Propiedad Industrial: La protección Jurídica de las vacunas comestibles.

8.1. VACUNAS COMESTIBLES COMO OMG

Pese a que existen numerosas aplicaciones y usos de la biotecnología vegetal moderna para la obtención de OMGs, el objeto de la presente tesis se centra en aquellos que permiten la obtención de vacunas comestibles, teniendo en cuenta que éstas no son más que una aplicación concreta de las técnicas biotecnológicas que están presentes en la actualidad.

Por ello, teniendo en cuenta que las vacunas comestibles son un tipo concreto de OMGs, se les aplica sin duda, la **Directiva 90/220/CE**, la cual ha sido modificada por la **Directiva 2001/18/CE**, y que establece un proceso de aprobación, pasó por paso y caso por caso que tenga en cuenta los riesgos a la salud humana, animal y al medio ambiente que pueda ocasionar cualquier producto que sea o contenga OMGs, entendiendo que las vacunas comestibles son en esencia OMGs, tal y como se aprecia en la figura 8.1.

Las vacunas comestibles también se verían afectadas por el **Reglamento 1829/2003** que indica que deberán ser etiquetados los alimentos que vayan a suministrarse como tales a los consumidores y que contengan o estén compuestos por OMGs, o contengan ingredientes producidos a partir de estos organismos. En estos alimentos en la lista de ingredientes figurará entre paréntesis inmediatamente después del ingrediente en cuestión el texto “*modificado genéticamente*” o “*producido a partir de [nombre del ingrediente] modificado genéticamente*”. Como puede observarse, aunque el fin de las vacunas comestibles es más sanitario que nutricional, éstas consisten en OMGs o están compuestas por OMGs, y en el supuesto de que éstas fueran puestas en el mercado para el consumidor, deberían registrarse por el Reglamento 1829/2003.

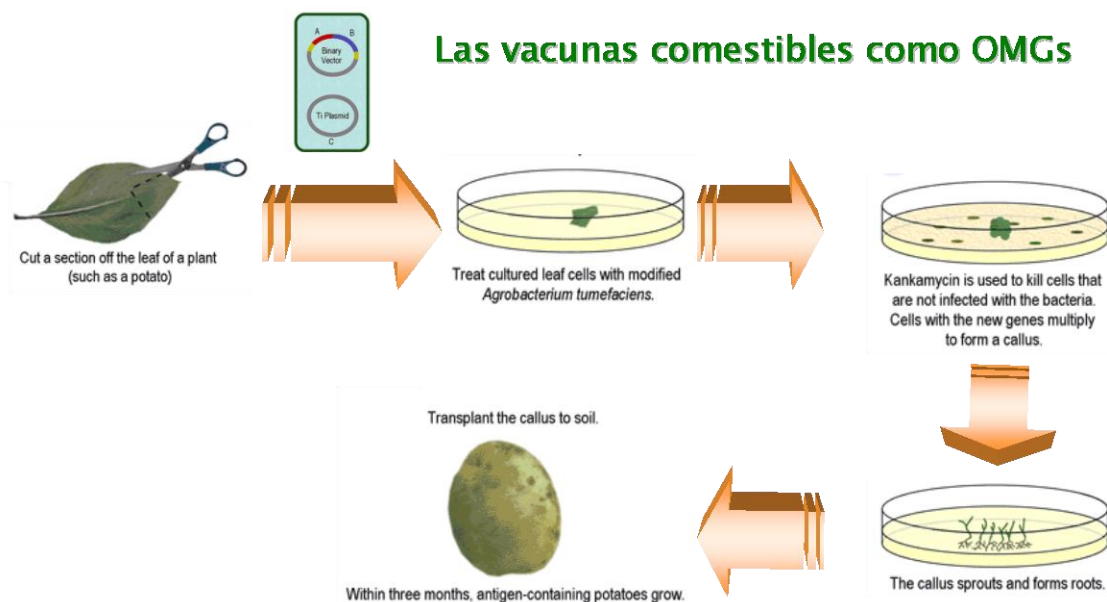


Figura 8.1 Esquema de obtención de una vacuna comestible

Fuente: Basado en <http://home.cwru.edu/~eay3/ESR/vaccine2big.htm>

Asimismo, las vacunas comestibles entrarían en el campo de actuación del **Reglamento 1830/2003**, que amplía el concepto de alimento modificado genéticamente a todo tipo de alimento que contenga o haya sido producido a partir de éstos, incluidas las fracciones derivadas de los mismos aunque sean idénticas a las convencionales.

Por lo tanto, dado que las vacunas comestibles, aunque tengan un efecto terapéutico o preventivo, también son considerados alimentos modificados genéticamente, en el caso de ser autorizados, la opción más oportuna es la del proceso de autorización única a través del Reglamento 1829/2003/CE y la Directiva 2001/18/CE. De este modo, cuando la vacuna comestible obtuviera su autorización, ésta podría utilizarse tanto para fines alimentarios, como para el cultivo y/o la liberación intencional en el medio ambiente.

8.2. VACUNAS COMESTIBLES COMO NUEVOS ALIMENTOS

La evidencia de que una alimentación sana es uno de los pilares de salud, se ha ido consolidando en nuestro estilo de vida en los últimos años. Así, se han tratado de buscar en los alimentos todas aquellas propiedades que les hicieran especialmente beneficiosos a la hora de incrementar o mantener nuestro estado de salud.

Esta nueva forma de entender la alimentación, supone una mejora en las expectativas y posibilidades del consumidor en general, y le provee de infinidad de alimentos, en muchos casos modificados genéticamente, que no sólo adoptan una función nutricional, sino también preventiva o terapéutica, como es el caso de las vacunas comestibles. Por ello, las vacunas comestibles en su más amplio sentido se pueden considerar nuevos alimentos y, por consiguiente, podrían ser reguladas como tal. Esto es así, porque las vacunas, lejos de asemejarse a los medicamentos como tradicionalmente los entendemos, siguen siendo alimentos y mantienen sus propiedades nutritivas, aunque sean productos modificados genéticamente.

Teniendo en cuenta este concepto y considerando que según el **Reglamento 258/97/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo que regula los nuevos alimentos o de nuevos ingredientes alimentarios derivados de variedades vegetales contempladas en la Directiva 70/457/CEE del Consejo (referente al catálogo común de las variedades de las especies de plantas agrícolas) y en la Directiva 70/458/CEE del Consejo, de 29 de septiembre de 1970 (referente a la comercialización de las semillas de plantas hortícolas) modificadas posteriormente por la Directiva 98/95/CE, las vacunas comestibles deberían regularse por la norma relativa a nuevos alimentos o ingredientes alimentarios derivados de variedades vegetales, al tratarse de OMGs de origen vegetal.

Por otro lado y no menos importante, considerando que el Reglamento 258/97/CE también hace alusión a nuevos alimentos o ingredientes alimentarios que contengan o consistan en organismos modificados genéticamente regulados por la Directiva 90/220/CEE del Consejo, sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente, es inevitable englobar a las vacunas comestibles nuevamente dentro del ámbito de dicho Reglamento.

Así, en base a lo establecido en el Reglamento 258/97/CE, se hace indispensable incluir a las vacunas comestibles como elementos que deben ser evaluados a fin de garantizar la seguridad para el medio ambiente con vistas a establecer un sistema comunitario unificado para la evaluación medioambiental junto con la evaluación de la idoneidad del producto para su uso como alimento o como ingrediente alimentario.

Por otro lado, también podría incluso aplicar lo establecido por el **Reglamento 1829/2003/CE** que, aunque es más restrictivo que la legislación anterior -al referirse indistintamente a todos los alimentos elaborados con OMGs, sin diferenciar entre aquellos que contienen ADN o proteínas modificadas genéticamente y los que no- también cubre la definición de vacuna comestible, en el sentido más amplio.

Además, esta legislación también prevé el mismo sistema de evaluación, autorización y etiquetado que para los alimentos destinados al consumo humano, de tal forma que se puede optar por presentar su solicitud de acuerdo con dicho Reglamento para conseguir una autorización exclusivamente alimentaria o puede dividir su demanda y solicitar la autorización según el Reglamento 1829/2003/CE y la Directiva 2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de OMGs de forma conjunta.

Es decir, según el procedimiento único de autorización, el solicitante puede presentar una única solicitud tanto para uso alimentario como para el cultivo de dicha especie vegetal modificada genéticamente, lo cual para el caso de las vacunas comestibles que se ingieren directamente desde la planta o sistema vegetal, sería perfecto.

8.3. LA PROTECCIÓN JURÍDICA DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL DE LAS VACUNAS COMESTIBLES

En el ámbito de los derechos inmateriales, existe la categoría de propiedades especiales, entre las cuales destacan la Propiedad Industrial y la Propiedad Intelectual, materias que vienen reguladas por sus disposiciones legales específicas.

En este sentido, para el objeto de la presente tesis, los **derechos de Propiedad Industrial** que se ha estimado que guardan mayor relación con las vacunas comestibles, son el título de Patente y el título de Obtentor de una nueva variedad vegetal.

Una **Patente** es un título que reconoce el derecho de explotar en exclusiva la invención patentada, impidiendo a otros su fabricación, venta o utilización sin consentimiento del titular. Como contrapartida, la Patente se pone a disposición del público para general conocimiento. El derecho otorgado por una Patente no es tanto el de la fabricación, el ofrecimiento en el mercado y la utilización del objeto de la Patente, que siempre tiene y puede ejercitar el titular sino, sobre todo y singularmente, "el derecho de excluir a otros" de la fabricación, utilización o introducción del producto o procedimiento patentado en el comercio.

La protección de las modalidades inventivas en materia de Patentes está regulada en España por la Ley 11/1986 de 20 de Marzo, de Patentes. En el caso particular de las vacunas comestibles al incluir modificaciones genéticas, también se ven afectadas por la Ley 10/2002 de 12 de marzo que ha modificado la ley de patentes para incorporar la Directiva 98/44/CE de protección de invenciones biotecnológicas. Por lo tanto, hoy en

día, en España la Ley 11/1986, incluye todos los aspectos relativos a invenciones biotecnológicas que son perfectamente aplicables a las vacunas comestibles al ser OMGs.

Así, las vacunas comestibles afectadas por la **Ley 10/2002** en cuanto a la protección por patentes biotecnológicas, pueden considerarse como patentes de producto, de procedimiento y de uso, indistintamente.

Sin embargo uno de los puntos de mayor discusión y, que afecta sin duda al caso de las vacunas comestibles, es el nivel de protección conferido por una patente biotecnológica, es decir, si mediante una patente de estas características se obtiene exclusividad sobre cualquier tipo de uso que se pueda dar a la construcción genética reivindicada, o si por el contrario, la protección se limita únicamente al uso indicado en la solicitud de la patente. Este tema de discusión, es importante para el caso de las vacunas comestibles, en tanto en cuanto, su uso puede ser indistinto, teniendo en cuenta aspectos regulatorios tanto sanitarios como alimentarios. Así, las vacunas comestibles se pueden considerar medicamentos o alimentos y por lo tanto el “uso” que se haga de las mismas puede ser muy diferente.

El Parlamento Europeo, consciente de este problema, reconoció en su resolución sobre las invenciones biotecnológicas del 26 de octubre de 2005 que, aunque la Directiva 98/44/CE permite patentar el ADN sólo en relación con un uso o función que debe estar convenientemente reivindicado, sin embargo no está tan claro si una patente biotecnológica cubre solamente la aplicación para los usos reivindicados, o si por el contrario, la patente también cubre otros usos diferentes. Es decir, que no queda claro cuál es el ámbito de protección de la secuencia genética objeto de la patente y, en el caso de las vacunas comestibles, supondría que la protección de la modificación genética se extiende a todo uso posible, es decir tanto farmacológico como alimentario.

En este sentido, lo más adecuado sería limitar la protección de la secuencia genética únicamente al uso reivindicado en la solicitud de patente, tal y como ha propuesto la Oficina Europea de Patentes a los Estados miembro del Convenio de Patente Europea. Sin embargo, España no ha adoptado ninguna figura legal que regule este aspecto.

Por lo tanto, cuando se analiza la **Directiva 98/44/CE**, en lo que se refiere a patentes biotecnológicas hay que tener en cuenta la complejidad que existe a la hora de interpretar el ámbito de protección y que este hecho aumenta cuando tenemos en cuenta ciertos tipos de invenciones biotecnológicas que, no solo afectan al campo técnico farmacéutico, sino también al vegetal y al alimentario, como es el caso de las vacunas comestibles, en las que pueden existir de forma paralela varios usos posibles del mismo producto protegido y que no necesariamente tienen que venir explícitamente reivindicados en una patente.

Por otro lado, para el caso de estudio que nos ocupa en la presente tesis, se pueden realizar de forma conjunta varios registros representativos del derecho de propiedad industrial, por estar involucrados diversos tipos de activos intangibles. Este es el caso de las vacunas comestibles, como un tipo de invención biotecnológica destinada a la mejora vegetal, cuya opción de protección más acertada es mediante el sistema de patentes. No obstante, dado que este sistema de protección se dirige fundamentalmente a la tecnología y a los genes manipulados, existe la opción jurídica del registro simultáneo mediante el sistema de protección de variedades vegetales.

Como se ha comentado anteriormente, este hecho viene motivado por la coexistencia de diferentes normas en la Unión Europea; la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas regulada en la Directiva 98/44/CE y el Reglamento 2100/94/CE relativo a la protección comunitaria de las obtenciones vegetales (Sánchez Gil, 2009). Así, en los aspectos regulados por la Directiva 98/44/CE incorporada a régimen jurídico español

mediante la Ley 10/2002, en lo que puede afectar a una vacuna comestible, quedan expresamente excluidas, entre otras, la posibilidad de patentar invenciones sobre variedades vegetales (salvo cuando las invenciones no se limiten a una única variedad vegetal), o los procedimientos esencialmente biológicos de obtención de vegetales. Lo que determina, la convivencia de patentes que protegen modificaciones genéticas aplicables a una pluralidad de variedades vegetales y los títulos de obtención vegetal para aquella variedad vegetal particular que incorpora el evento o los eventos objeto de patente.

La Ley 10/2002 también contempla -de acuerdo con las normas del Reglamento 2100/94/CE- el derecho del agricultor a utilizar el producto de su cosecha en determinadas especies vegetales (que no incluyen maíz, soja, algodón o remolacha, pero sí trigo, cebada, arroz, colza o patatas) como material de propagación en su propia explotación (Costa, 2009).

En este sentido, vuelve a prevalecer la coexistencia de ambos títulos de propiedad industrial y, por ello aunque una variedad transgénica contenga tecnología patentada, este no es un obstáculo para que la variedad pueda estar protegida por un título de obtención vegetal. De hecho, la propia Ley 10/2002 establece que, cuando una obtención vegetal o una nueva invención no puedan explotarse sin menoscabo de los derechos conferidos por dichos títulos, el titular de la obtención vegetal o de la nueva invención podrá solicitar una licencia obligatoria no exclusiva, mediante el pago de un canon adecuado (Costa, 2009), con el fin de no lesionar derechos cruzados entre patentes y variedades vegetales.

Además no hay que olvidar que, aunque la Ley 10/2002 no regula expresamente algunos aspectos como los derechos del *“privilegio del agricultor”*, las patentes biotecnológicas no otorgan ningún derecho de propiedad sobre el material vegetal, sino tan solo un derecho exclusivo temporal (20 años) para explotar una innovación de base tecnológica, cuyos

beneficios necesariamente tendrán que ser compartidos con otros operadores de la cadena de valor, incluyendo a los agricultores. Así, la presencia adventicia de una modificación genética en un cultivo convencional no implica infracción de los derechos de propiedad industrial, salvo que vaya acompañada de medidas de selección para utilizarla sin licencia (Costa, 2009).

Un aspecto que no hay que dejar al margen, aparte del entramado regulatorio entre patentes y obtenciones vegetales, es que la controversia en torno a los derechos de propiedad intelectual, se acentúa en el caso de las vacunas comestibles por ser un producto inicialmente pensado para los países en vías de desarrollo. Y, aunque las negociaciones internacionales tienden a la armonización y al fortalecimiento de las regulaciones estatales en los países en vías de desarrollo, los efectos de este fortalecimiento en materia de vacunas comestibles, no son claros y se requiere de un estudio y análisis más profundos.

8.4. COMERCIALIZACIÓN DE VACUNAS COMESTIBLES

A día de hoy, existe un vacío legal en relación con la normativa que regula la comercialización de las vacunas comestibles, dado que aún no se ha comercializado como tal ninguna. La obtención de permisos de comercialización para vacunas comestibles implica una dualidad legislativa, ya que, por un lado, se pueden considerar “medicamentos” y por otro lado, “alimentos”.

El procedimiento de autorización de comercialización sería complejo en ambos casos, ya que las vacunas comestibles expresan proteínas recombinantes y, por lo tanto, se obtienen a partir de procedimientos biotecnológicos, que a su vez implican un riesgo para la salud que debe evaluarse exhaustivamente por las Autoridades Sanitarias competentes en cada caso.

Como se ha indicado anteriormente, el **Reglamento 1829/2003/CE** aplica para la evaluación, autorización y etiquetado de vacunas comestibles, estableciendo la posibilidad de presentar una solicitud para conseguir una autorización exclusivamente alimentaria; o dividir su demanda y solicitar la autorización según el Reglamento 1829/2003/CE y la Directiva 2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de OMGs de forma conjunta.

Los pasos que debe seguir un solicitante para intentar comercializar un OMG deben comenzar por la presentación de una solicitud ante la autoridad competente nacional del país donde en primer lugar se va a comercializar, presentando un informe de riesgo. Si la autoridad nacional da una opinión favorable, el Estado Miembro informa al resto de países a través de la Comisión. Si no hay objeciones, el producto podrá ser puesto en el

mercado en toda la Unión Europea. Por el contrario, si se levanta algún tipo de objeción, la Comisión pedirá opinión a los Comités Científicos.

Si ésta es favorable, la Comisión propondrá una Decisión a un Comité de Regulación. Si la opinión de este Comité de Regulación es favorable, la Comisión adoptará dicha Decisión. Si por el contrario, la opinión no es favorable, la Decisión pasará al Consejo de Ministros, el cual tendrá que adoptarla o rechazarla por unanimidad. No obstante, si el Consejo no actúa en un periodo de tres meses, la Comisión puede adoptar dicha decisión.

Por otro lado, si lo que se pretende comercializar son los vegetales como tal que incluyan la expresión de proteínas recombinantes considerados como variedades vegetales, es necesaria su inscripción previa en el Registro de Variedades Comerciales. En efecto, según dicta el artículo 3 de la Ley 9/2003, la autorización de comercialización de OMGs o productos que los contengan, la autorización de los ensayos de campo relacionados con el examen técnico para la inscripción en el Registro de Variedades Comerciales y la vigilancia, control y sanción, son competencias de la Administración General del Estado.

Adicionalmente, como la regulación para la autorización de comercialización de compuestos derivados de OMGs a nivel internacional no está armonizada, cada país ha desarrollado un marco regulatorio diferente, en donde los EEUU representan el modelo más simplificado en el que las modificaciones genéticas no se considera que supongan más riesgo que otras tecnologías científicas más convencionales. Las consecuencias de la aproximación regulatoria adoptada por los EEUU para los productos modificados genéticamente es que sólo deben ser autorizados por la FDA o la EPA antes de su comercialización en el caso de que contengan aditivos alimentarios o pesticidas, por lo que, el hecho de que una planta se haya desarrollado utilizando técnicas de ADN recombinante, no es en sí misma una condición que requiera autorización previa para su

comercialización. Por ello, en los EEUU la autorización de un compuesto obtenido a partir de una planta modificada genéticamente -como el caso de una vacuna comestible- se obtiene a través de la FDA.

El caso práctico de autorización que más se asemeja a una vacuna comestible fue conseguido en 2008 por la empresa israelí Protalix Biotherapeutics y se refiere a la enzima glucocerebrosidasa recombinante producida a partir de células de zanahorias modificadas genéticamente, con la peculiaridad de que son producidas en grandes bolsas de plástico. De este modo, han conseguido superar las objeciones planteadas por las autoridades sanitarias americanas, ya que han sido considerados cultivos celulares alejados del campo de cultivo y no partes de plantas o plantas completas, lo cual disipa las preocupaciones regulatorias sobre bioseguridad y medio ambiente (Kaiser, 2008)

La siguiente figura 8.2 representa el esquema general de los aspectos que pueden ser regulados en el caso de una vacuna comestible.

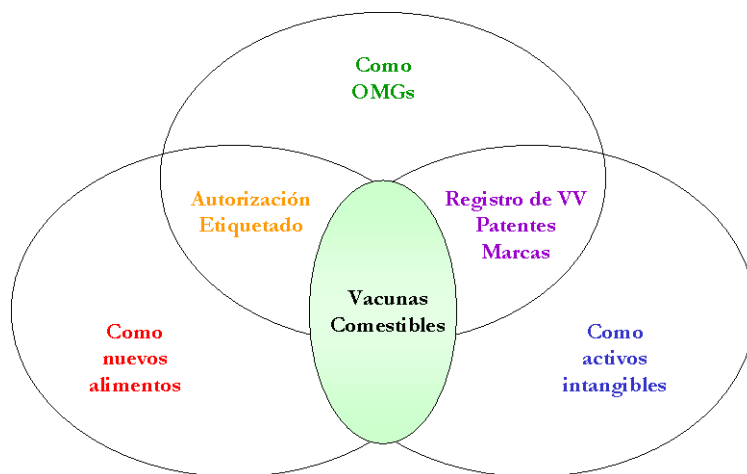


Figura 8.2 Esquema resumen de la regulación de vacunas comestibles

9. ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS

Aunque las plantas se han utilizado durante miles de años con fines medicinales, ha sido recientemente cuando por medio de la ingeniería genética se han utilizado como biofactorías o biorreactores para producir diversos compuestos de interés farmacéutico.

Dado que la demanda de estos compuestos va en aumento en todo el mundo (Loza-Rubio y Gómez Lim, 2006), el uso de tecnologías -como *Molecular Pharming*- que emplean sistemas vegetales para obtención de compuestos terapéuticos, también está cada vez más extendido.

Además, actualmente el alto coste de muchos compuestos farmacéuticos limita su disponibilidad y aplicación, sobre todo en países en vías de desarrollo, por lo que los sistemas vegetales se convierten en una alternativa económica, desde el punto de vista de la producción y del almacenamiento, a la par de sencilla por el fácil proceso de escalado. Por otro lado, como ya se ha citado anteriormente, los compuestos obtenidos a partir de plantas modificadas genéticamente son más seguros que los derivados de otros sistemas de expresión (Horn *et al.*, 2004).

En esta línea, las vacunas comestibles presentan una serie de ventajas industriales como el ahorro en procesos de purificación y extracción de los compuestos antigénicos expresados en las mismas y el ahorro logístico derivado del transporte, acondicionamiento, cadena de frío y almacenamiento, que se evita al consumir el material vegetal fresco directamente desde la planta. Por ello, la producción de proteínas recombinantes con carácter antigénico a partir de plantas modificadas genéticamente, tiene muchas ventajas potenciales dado que son más económicos que la infraestructura industrial utilizada en sistemas de fermentación o en biorreactores (Howard *et al.*, 2003).

9.1. ASPECTOS SOCIO-POLÍTICOS

Una de las preocupaciones mundiales es que cualquier nuevo desarrollo tecnológico cumpla el requisito de “sostenibilidad” entendiendo el desarrollo sostenible como aquel *“que satisface las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades”* (Comisión Mundial de Medio Ambiente y Desarrollo, 1988). Hasta la fecha, los cultivos biotecnológicos –entre los que sin duda se encuentran las vacunas comestibles- han contribuido al desarrollo sostenible de varias formas significativas, que se resumen a continuación:

- Contribución a la **seguridad alimentaria** y a la producción de alimentos más asequibles: Los cultivos biotecnológicos pueden ser muy importantes para la seguridad alimentaria y para producir alimentos más asequibles aumentando la oferta (incrementando la productividad por hectárea) y reduciendo al mismo tiempo los costes de producción (menor necesidad de insumos, menor labranza y menor aplicación de pesticidas), lo que a su vez conlleva un menor consumo de combustibles fósiles para la maquinaria agrícola y contribuye a paliar algunos de los aspectos negativos del cambio climático.
- Conservación de la **biodiversidad**: La agrobiotecnología economiza suelo, ya que es capaz de incrementar la productividad de los actuales 1.500 millones de hectáreas de tierras de cultivo y, con ello, prevenir la deforestación y proteger la biodiversidad de los bosques y de otros refugios naturales.
- Contribución a la lucha contra la **pobreza y el hambre**: El 50% de la población pobre del mundo son pequeños agricultores y otro 20% son campesinos, que dependen totalmente de la agricultura para subsistir. Por lo tanto, aumentar la renta de los pequeños agricultores es una forma de contribuir directamente a aliviar las necesidades

de una gran mayoría de los habitantes más pobres del planeta. Actualmente, el algodón transgénico en la India, China y Sudáfrica y el maíz transgénico en Filipinas y Sudáfrica representan una parte importante de la renta de más de 12 millones de agricultores pobres, que puede aumentar de forma significativa en los siete años que restan del segundo decenio de comercialización (2006-2015).

- Reducción de la **huella ecológica de la agricultura**: La agricultura convencional ha causado impactos ambientales significativos y su huella ecológica puede reducirse utilizando la biotecnología. Entre los progresos realizados durante el primer decenio cabe destacar la notable reducción del consumo de pesticidas, el ahorro de combustibles fósiles y la reducción de las emisiones de CO₂ gracias a la reducción o desaparición de las roturaciones, y la conservación del suelo y de la humedad optimizando las prácticas agrícolas sin labranza mediante la aplicación de la tolerancia a herbicidas.
- Contribución a la **lucha contra el cambio climático y a la reducción de las emisiones** de gases de efecto invernadero: La importante y urgente preocupación por el medio ambiente tiene implicaciones para los cultivos biotecnológicos, que pueden contribuir a reducir los gases de efecto invernadero y frenar el cambio climático por dos vías principales: consiguiendo un descenso permanente de las emisiones de dióxido de carbono gracias a la reducción del consumo de combustibles fósiles como consecuencia del menor número de aplicaciones de insecticidas y herbicidas y con el empleo de métodos de labranza de conservación con los cultivos biotecnológicos de alimentos, forraje y fibra tolerantes a herbicidas.
- Contribución a la **producción rentable de biocombustibles**: La biotecnología puede utilizarse para rentabilizar y optimizar la productividad de la biomasa por hectárea de cultivo de fibra y alimentos para consumo humano y animal de primera generación, así

como de cultivos energéticos de segunda generación. Esto se puede conseguir mediante el desarrollo de cultivos con tolerancia al estrés biótico (plagas, malezas y enfermedades) y abiótico (sequía, salinidad y temperaturas extremas). Además, se puede elevar el límite de rendimiento potencial por hectárea modificando el metabolismo de la planta. También existe la oportunidad de utilizar la biotecnología para desarrollar enzimas más eficaces para el procesamiento posterior de biocombustibles.

- Contribución a la **obtención de beneficios económicos sostenibles**: Uno de los estudios más recientes del impacto global de los cultivos biotecnológicos entre 1996 y 2007 (Brookes y Barfoot, 2009) cifra los beneficios económicos netos globales obtenidos por los agricultores biotecnológicos sólo en 2007 en 10.000 millones de dólares (6.000 millones en los países en desarrollo y 4.000 en los países industrializados). Los beneficios acumulados durante el período fueron de 44.000 millones de dólares, repartidos al 50% entre países en vías de desarrollo y países industrializados.

Un hito extremadamente importante que se produjo durante el año 2008 en torno a los cultivos biotecnológicos, es la implicación y aceptación política internacional. Se ha podido apreciar cómo los dirigentes políticos a nivel mundial vieron cada vez más a los cultivos biotecnológicos como parte clave de la solución a cuestiones sociales de gran importancia como la seguridad alimentaria y la sostenibilidad.

Como ejemplo de este hito, cabe destacar que en el año 2008 por primera vez los líderes del G-8 en la Cumbre celebrada en ese mismo año, reconocieron la importancia de los cultivos MG e hicieron un llamamiento dirigido a *“acelerar la investigación, desarrollo y el acceso a nuevas tecnologías agrícolas para aumentar la producción agrícola; promoveremos la ciencia basada en el*

análisis de riesgo, en particular la contribución de las variedades de semillas desarrolladas a través de la biotecnología" (Clive James, 2008).

La Unión Europea por su parte, también reconoció el aporte de los cultivos biotecnológicos y afirmó que *"pueden desempeñar un papel importante en la mitigación de los efectos de la crisis alimentaria" (Clive James, 2008).*

En China, el Primer Ministro Wen Jiabao expresó el firme compromiso político de su país con esta tecnología cuando, al dirigirse a la Academia China de Ciencias en junio declaró *"para resolver el problema alimentario tenemos que contar con grandes medidas en ciencia y la tecnología, contar con la biotecnología, con los OMGs"* Como resultado, China ha asignado 3,5 millones de dólares adicionales para los próximos doce años que serán invertidos en investigación y desarrollo. Además en China, el arroz MG por sí solo, ya desarrollado y probado en campo en la China, tiene el potencial de aumentar la disponibilidad de alimentos para 440 millones de personas en el país, aproximadamente.

En este sentido, la aceptabilidad de la biotecnología para la producción de vacunas comestibles, entendidas como alimentos modificados genéticamente, es crucial desde un punto de vista político y ético estableciendo los principios adecuados para garantizar la inexistencia de riesgos ambientales, que las vacunas sean seguras, efectivas y nutritivas, que su desarrollo y comercialización no estén impulsados exclusivamente por el afán de lucro de las empresas, que contribuyan a disminuir las desigualdades económicas y sanitarias, que promuevan prácticas agropecuarias ecológicamente adecuadas y que aseguren la sustentabilidad de los recursos vivos del planeta.

9.1.1. Importancia internacional de la vacunación

La vacunación a gran escala supone una serie de dificultades derivadas de los altos costes de las vacunas -sobre todo de aquellas de última generación- y del riesgo de que la distribución en lugares remotos y de difícil acceso no sea adecuada. Otra complicación añadida, se centra en que la mayoría de las vacunas disponibles se aplican por vía parenteral y la Organización Mundial de la Salud ha recomendado en diversas ocasiones buscar alternativas para sustituir a las inyecciones, debido a que se ha encontrado en muchos países en vías de desarrollo que hasta un 30% de las inyecciones se realizan con jeringas no estériles.

Así, la idea de desarrollar alimentos modificados genéticamente que posean en su composición la sustancia que desencadena las defensas del cuerpo, es una alternativa ampliamente promovida por la OMS dado que permite la obtención de vacunas comestibles localmente, utilizando cultivos autóctonos de cada región y recursos propios de cada uno de los países, permitiendo así, el acceso masivo a la vacunación, incluso en zonas alejadas de centros sanitarios.

Este acceso a la vacunación por parte de los países en vías de desarrollo, se hace absolutamente necesario desde un punto de vista sanitario, porque proporciona una inmunidad básica que actualmente no tienen, debido a que la mayoría de las empresas multinacionales no invierten en infraestructuras en estos países ni los propios Estados locales promueven ayudas o facilitan el acceso a los sistemas generales de vacunación para la población en general.

Por ello, se hace cada vez más necesario, que los propios Estados tengan a su alcance tecnologías acordes a su nivel socioeconómico que les permita producir a gran escala compuestos farmacológicos en sistemas económicos y de fácil manipulación, como son los sistemas vegetales como sistemas de expresión de compuestos biológicos y, en particular, vacunas comestibles.

Este aspecto guarda una estrecha relación con los objetivos planteados en el último estudio publicado en 2009 por la OMS titulado “Vacunas e inmunización: situación mundial” donde se refleja que si todas las vacunas disponibles hoy en día contra enfermedades infantiles se adoptaran de forma generalizada, y si los países pudiesen incrementar la cobertura vacunal hasta un promedio mundial del 90%, de aquí a 2015 podrían prevenirse dos millones de muertes más al año entre niños menores de cinco años. Este hecho tendría una repercusión importantísima en el progreso hacia el objetivo mundial de reducir la mortalidad infantil en dos tercios entre 1990 y 2015.

Relacionado íntimamente con el gasto social, la OMS incide en que la generalización del uso de vacunas, también serviría para reducir en gran medida la carga de morbilidad y discapacidad debidas a enfermedades prevenibles mediante vacunas, y contribuiría a mejorar la salud y el bienestar de los niños, además de reducir los costes de hospitalización. Y, teniendo en cuenta que el índice poblacional es cada vez mayor en los países en vías de desarrollo (sustancialmente superior al de los países industrializados), cada vez es más importante disponer de un sistema de vacunación generalizado adaptado a las necesidades de cada núcleo poblacional, y por ello, las vacunas comestibles parecen una alternativa apropiada para los países menos industrializados.

En 2005, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) publicaron la Visión y Estrategia Mundial de Inmunización

(GIVS) para el decenio 2006-2015. Centrada primordialmente en la necesidad de garantizar la igualdad en el acceso a las vacunas y la inmunización, la estrategia define los pasos que debe dar la comunidad relacionada con la inmunización, a fin de contribuir plenamente al logro de las metas de reducción de la mortalidad de los objetivos fijados de desarrollo del Milenio (ODM). La ejecución de la estrategia, exige cuatro enfoques principales: proteger a más personas; introducir nuevas vacunas y tecnologías; integrar la inmunización con otros componentes en el marco del sistema sanitario, e inmunizar en un contexto de interdependencia mundial (OMS, 2009).

Según el último informe publicado por la OMS en 2009, desde la Cumbre del Milenio celebrada en el año 2000, la inmunización como estrategia global se ha convertido en una realidad, pasando a ocupar un lugar central como herramienta propulsora para conseguir los ODM, en particular, en lo que se refiere a la reducción de la mortalidad entre los niños menores de cinco años.

Adicionalmente, en la última década, se puede observar que los beneficios de la inmunización se están extendiendo cada vez más a los adolescentes y los adultos, protegiéndolos contra enfermedades que ponen en peligro la vida como la gripe, la meningitis y ciertos cánceres que aparecen en la edad adulta (OMS, 2009).

Si bien es cierto que, en los PD se dispone de más vacunas y se están salvando más vidas, por primera vez, el número de niños que mueren cada año ha disminuido por debajo de los 10 millones, lo que se ha debido fundamentalmente a dos razones: a la mejora del acceso al agua potable y al saneamiento y, a la mayor cobertura de inmunización y prestación integrada de intervenciones sanitarias básicas. Este hecho se ha conseguido gracias a que se ha obtenido mayor diversidad y cantidad de vacunas y a que muchas de

éstas se encuentran en las últimas fases clínicas, lo que hace del presente decenio el más productivo de la historia del desarrollo de vacunas.

Por ello, los dos últimos años, han sido especialmente alentadores para el campo de las vacunas, ya que se han conseguido más fondos para la inmunización gracias a mecanismos de financiación innovadores, así como a la creación de alianzas entre los sectores público y privado para contribuir al logro de los objetivos mundiales relacionados con la inmunización.

Adicionalmente, la industria de las vacunas está atravesando un periodo de renovación y dinamismo. Desde el año 2000, el mercado mundial de vacunas prácticamente se ha triplicado, con unos ingresos mundiales superiores a 17.000 millones de dólares americanos en 2008, lo que ha hecho que el sector sea uno de los de más rápido crecimiento de la industria. No obstante, la mayor parte de esa expansión se debe a las ventas en los países industrializados de vacunas biotecnológicas más nuevas y costosas, que suponen más de la mitad del valor total de las ventas de vacunas en todo el mundo (OMS, 2009).

Sin embargo, las crecientes diferencias entre las vacunas que se utilizan en los PVD y en los PD, la caída del número de proveedores en los PD y una reducción de la capacidad de producción, llevaron a finales del decenio de 1990 a una situación de crisis en el suministro de vacunas. Para responder a esta situación, se tomaron diversas medidas pero la más efectiva fue la promovida por UNICEF, que adquirió vacunas para llegar a más de la mitad (55%) de los niños del mundo, elaborando una estrategia sobre los suministros de vacunas con el fin de asegurar un abastecimiento interrumpido y sostenible de vacunas asequibles y de calidad garantizada. Si bien, la estrategia consiguió frenar la caída del

suministro de vacunas, el suministro sigue dependiendo en gran medida de un número reducido de fabricantes de vacunas.

Por ello, la vigilancia y el seguimiento de los programas de inmunización son pilares básicos y desempeñan un papel fundamental en la planificación de programas sanitarios, en el establecimiento de prioridades y en la movilización de recursos, así como en la evaluación de las tendencias de la carga de morbilidad, en la valoración del impacto de los programas de lucha contra las enfermedades y en el progreso hacia los ODM.

Así, desde el año 2000, el aumento de las iniciativas de inmunización y la necesidad de disponer de datos de morbilidad para conocer la repercusión de las nuevas vacunas han puesto de manifiesto la necesidad de fortalecer la vigilancia y el seguimiento en todos los niveles. Además, los sistemas de vigilancia de enfermedades deben tener un mecanismo de alerta temprana en caso de brote de enfermedad inminente o en curso. Un claro ejemplo del buen funcionamiento de este sistema de vigilancia, es la respuesta liderada por la OMS el 11 de junio de 2009 frente a la situación pandémica provocada por la cepa gripal A H1N1, constituyéndose como la primera pandemia oficial del siglo XXI.

Sin embargo, en los últimos años se ha generado una situación paradójica ya, que en los PD, a medida que la cobertura vacunal ha ido creciendo y la incidencia de ciertas enfermedades ha disminuido, ha aumentado la preocupación acerca del déficit de un buen sistema de vacunación en PVD, hecho que puede desencadenar fácilmente situaciones endémicas en el caso de enfermedades causadas por virus (como la gripe aviar o la gripe A) por una prevalencia exacerbada en muy poco tiempo, que puede generar situaciones de emergencia debidas entre otras causas a resistencias y mutaciones de los agentes infecciosos que provocan dichas enfermedades. Por otro lado, situaciones incontrolables, como el cambio climático supondrán un grave problema adicional que alterará el contexto

epidemiológico en el que operan las vacunas y la inmunización, lo que traerá consigo nuevos desafíos sanitarios.

Además, teniendo en cuenta que desde principios de 2009, los países de todo el mundo están padeciendo una recesión económica y perturbaciones financieras, se pueden poner en peligro los avances que tantos esfuerzos han costado en el campo de la vacunación, retrasando la investigación, el desarrollo y la fabricación masiva de vacunas.

De ahí, que la importancia de la vacunación sea una estrategia global, que repercuta tanto en países desarrollados como en aquellos emergentes o en vías de desarrollo, procurando un control de la inmunización básico a escala internacional, para evitar situaciones endémicas y resistencias que impidan erradicar ciertas enfermedades como la polio, el tétanos, el sarampión o el SIDA. Este enfoque global, se encuentra en línea con los objetivos perseguidos para alcanzar los ODM, con los que se pretende que la mortalidad entre los menores de cinco años se haya reducido a un mínimo histórico en el año 2020. Estos esfuerzos, darán lugar a que durante el próximo decenio, un número creciente de países emergentes estarán utilizando las nuevas vacunas que salen al mercado.

El informe publicado por la OMS en 2009, hace especial hincapié en que para los PVD se prevén nuevos sistemas de administración de vacunas y, que es probable, que los dispositivos que utilizan agujas sean sustituidos, en su mayoría, por nuevos sistemas como preparaciones en aerosol por vía nasal (ya disponibles para una vacuna antigripal) o pulmonar (actualmente en fase de ensayo clínico), parches cutáneos adhesivos, gotas sublinguales y sistemas de administración oral. Además, en la mayoría de los casos sigue prevaleciendo la necesidad de obtener vacunas termoestables, que permitan disminuir los costes e infraestructuras necesarias para mantener la cadena de frío (OMS, 2009).

En este sentido las vacunas de nueva generación, como las vacunas comestibles, proporcionan una alternativa económica y de fácil producción para conseguir los ODM, ya que no requieren de cadena de frío y permiten una producción a medida en los diferentes países en vías de desarrollo. Así, se prevé la posibilidad de que los fabricantes de los países en vías de desarrollo adquieran la capacidad de fabricar sus propias vacunas de nueva generación, adaptadas a sus necesidades específicas. Además, en el caso de vacunas homólogas a las producidas en países industrializados, su contribución al suministro mundial como fabricantes de las mismas, se encontrará en condiciones de mayor igualdad con los países desarrollados, lo que probablemente hará aumentar la competencia y el stock mundial.

9.2. ASPECTOS ECONÓMICOS E INDUSTRIALES

En el informe “Consecuencias, oportunidades y retos de la biotecnología moderna para Europa”, se aborda por primera vez de forma minuciosa la contribución que está teniendo la biotecnología moderna para los objetivos de las principales políticas de la Unión Europea. En este informe se afirma que *“los productos y los procesos de la biotecnología moderna son parte integral de la economía de la UE, sobre todo en la fabricación, en los sectores farmacéutico, agroalimentario, la atención sanitaria y otros”* y, destaca a la Agrobiotecnología como uno de los sectores que más impacto económico ha desencadenado en los últimos tiempos (IPTS, 2007).

Los autores calculan que la biotecnología moderna representa el 1,69% de la economía de la UE, lo que es comparable a otros sectores importantes como la agricultura (1,79%) o la industria química (1,95%). Además, se considera que la biotecnología impulsa la competitividad empresarial, teniendo en cuenta que los empleados que se incorporan a este tipo de industria tienen un alto grado de especialización.

Además, el informe resalta que en el sector de la atención sanitaria ya está muy extendido el uso de la biotecnología, destacando el uso de productos biofarmacéuticos (9% del mercado europeo en 2005), las vacunas recombinantes (17% mercado europeo de vacunas en 2005) y los métodos de diagnóstico in vitro basados en la biotecnología moderna (principalmente ensayos de inmunidad y los basados en ácidos nucleares, con una participación del 30% de los diagnósticos en 2005).

En lo que concierne a la Comunicación publicada por la Comisión Europea en 2007, los avances económicos e industriales más representativos también están íntimamente

relacionados con el cuidado de la salud y la Agrobiotecnología, constituyendo uno de los sectores que más influyen en la economía de la UE, por ejemplo, en medicina y farmacología, pero también en los sectores de la transformación industrial y de la producción primaria y agroalimentaria.

En total, la biotecnología moderna genera aproximadamente el 1,56% del valor añadido bruto (VAB) de la UE, en cifras de 2002, a lo que cabría añadir los efectos positivos de esta tecnología, como la mejora de la salud de la población. Para continuar con la mejora económica, la Comisión Europea establece en su comunicación de 2007, unas prioridades de actuación que agrupa en cinco temas principales (Comisión Europea, 2007):

- Promoción de la investigación y del desarrollo del mercado de las aplicaciones de las ciencias de la vida y de la biotecnología, así como de la Bioeconomía europea basada en el conocimiento (KBBE).
- Favorecer la competitividad, la transferencia tecnológica y la innovación de la ciencia a la industria. Las empresas europeas especializadas en biotecnología son en su mayoría PYME con recursos limitados y cuyo crecimiento y viabilidad financiera se enfrentan a tres obstáculos esenciales: el fragmentado sistema europeo de patentes, la insuficiente oferta de capital riesgo y la escasa cooperación entre la ciencia y la empresa.
- Promover los debates públicos bien informados sobre las ventajas y los riesgos de las ciencias de la vida y la biotecnología. La utilización de la biotecnología depende de su aceptación por la sociedad y por el mercado.
- Garantizar una contribución sostenible de la biotecnología moderna a la agricultura. Las posibilidades de desarrollo de la biotecnología en los sectores de la producción primaria y agroalimentario son enormes, en particular, en lo que respecta a la sustitución de los procesos químicos y de los combustibles fósiles.

- Mejorar la aplicación de la legislación y sus efectos sobre la competitividad. Probablemente, la UE posee el marco jurídico más desarrollado, y en ocasiones más riguroso, de aplicación a las ciencias de la vida y la biotecnología. Sin embargo, la severidad de las normas no debe suponer un obstáculo a la competitividad y la innovación.

Revisando los datos publicados por la Comisión Europea en 2007, el sector europeo de la biotecnología proporciona empleo directo a 96.500 personas, la mayoría en PYME, pero el empleo en las industrias que utilizan productos de biotecnología es mucho más elevado. El sector se caracteriza por un fuerte predominio de la investigación, ya que el 44% de sus empleados (42.500 personas) desarrollan funciones relacionadas con las actividades de investigación y desarrollo.

Si observamos los datos publicados por la Fundación Genoma España en 2009, al referirse a la relevancia de la Biotecnología en España durante el periodo comprendido entre 2000 y 2008, se aprecia que el tejido empresarial biotecnológico ha crecido el 239% y la facturación se ha incrementado en 3,5 veces la tasa media anualizada del 14%. Un hecho muy característico que llama la atención, es que en la comparativa internacional y normalizados todos los países por PIB y población, España continua su fase de expansión creciendo anualmente un 3,5% más que los EEUU, si bien el tamaño del sector biotecnológico español apenas supone un 34% del mercado norteamericano.

En términos macroeconómicos, la biotecnología en España supone casi el 0,8% del PIB siendo responsable de más de 63.300 empleos. Las previsiones en la materia pronostican un 1,6% del PIB con 160.000 empleos en 2012.

Uno de los indicadores más representativos del crecimiento bioeconómico en España, es el número de solicitudes de patentes depositadas ante las diversas oficinas de patentes, así como el volumen de transferencia de tecnología y licencias de patentes. Un aspecto característico que publica este informe, es una revisión de indicadores económicos que permiten hacer una clasificación para cuantificar de la mejor forma posible el crecimiento del sector biotecnológico en España. De este modo, se observa que los indicadores más representativos son los referidos en la tabla 9.1.

Tabla 9.1 Indicadores económicos	
Indicadores de Recursos	Inversión Pública en I+D Gasto Privado en I+D Inversión Capital Riesgo Número de empleados Doctores en Ciencias de la Vida
Indicadores de Resultados	Producción científica Número de empresas Solicitudes PCT de patentes Patentes Europeas concedidas Patentes Americanas concedidas Facturación empresarial
<i>Fuente: Informes de Relevancia de la Biotecnología. Relevancia de la Biotecnología en España (2009). Fundación Genoma España.</i>	

Teniendo en cuenta estos indicadores, de los cuales el 50% de los indicadores de resultados tienen relación directa con los activos intangibles relativos a patentes, se observa una tendencia creciente del posicionamiento de la biotecnología en España. Sin embargo, en relación con los resultados de los EEUU, apenas representa un 34% del mercado norteamericano (figura 9.1).

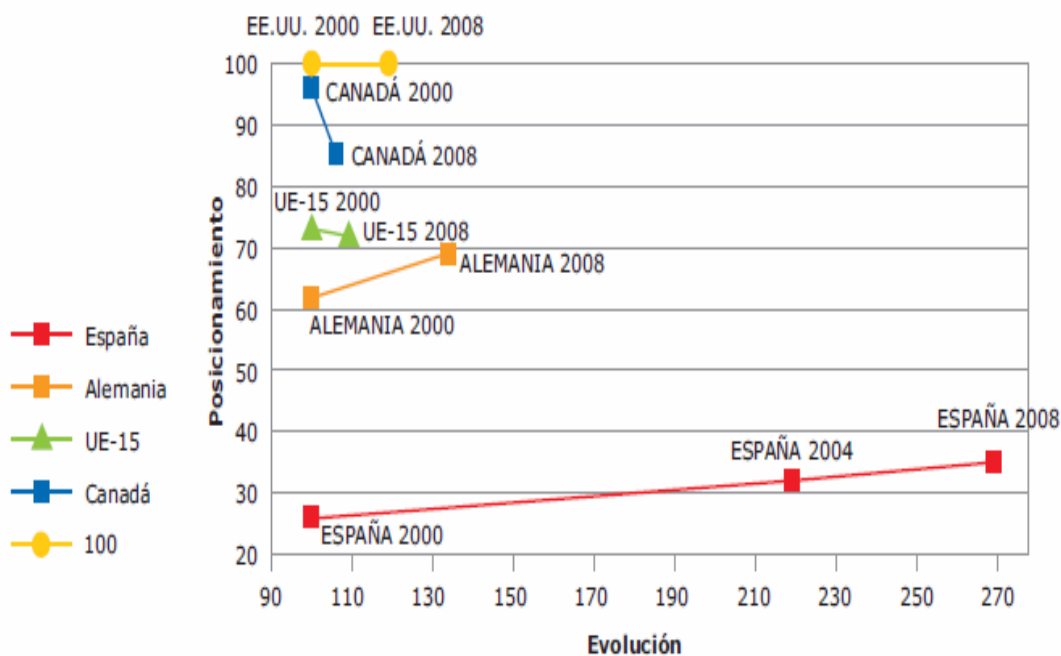


Figura 9.1 Evolución y posicionamiento de la biotecnología

Fuente: Genoma España 2009

Esta tendencia alcista, guarda una relación directa con las patentes y los activos de propiedad industrial generados en los últimos años. Siendo éstos algunos de los indicadores más utilizados a escala internacional y por tanto más comparativos y concluyentes. Por ello, para el objeto de la presente tesis se ha realizado un estudio pormenorizado de las solicitudes de patentes que protegen vacunas comestibles, haciendo un análisis de aquellas consideradas más representativas en el estado de la técnica.

9.2.1. Patentes relativas a vacunas comestibles

La controversia en torno a los derechos de propiedad intelectual se acentúa en el caso de las vacunas comestibles al ser un producto pensado para los países en vías de desarrollo. Y, aunque las negociaciones internacionales tienden a la armonización y al fortalecimiento de las regulaciones en los países en desarrollo, los efectos de este fortalecimiento en la protección de derechos de propiedad intelectual para innovación en materia de vacunas comestibles no son claros y se requiere de un estudio y análisis más profundos.

Estas limitaciones aumentan si tenemos en cuenta que hasta la fecha no hay patentes de vacunas comestibles que se estén explotando comercialmente por empresas en Europa, por lo que es difícil realizar una interpretación correcta de ciertos aspectos que hasta ahora no se han estudiado y que pueden dar lugar a conflictos de derechos de propiedad industrial.

Por otro lado, para el objeto de la presente tesis, no se puede obviar que las vacunas comestibles como sistemas vegetales, también pueden ser consideradas variedades vegetales. En este sentido, hay que tener en cuenta que las variedades vegetales pueden estar formadas por plantas enteras o partes de plantas, a condición de que estas últimas puedan generar plantas enteras y que se protegen a través de un sistema *sui generis* de Propiedad Industrial (Derecho de obtentor) que tiene efectos similares a los de una patente vegetal y que en España se regulan por la Ley 3/2000 de 7 de enero del régimen jurídico de protección de las obtenciones vegetales, modificada por la Ley 10/2002 de 12 de marzo (Sánchez Gil, 2000).

Para enriquecimiento de la presente tesis, se ha realizado un estudio de vigilancia tecnológica que ha permitido detectar aquellas patentes que, por su importancia y relación con algunos de los estudios clínicos previamente desarrollados en apartados anteriores, es importante mencionar (tabla 9.2).

Esta lista de patentes no recoge la totalidad de invenciones existentes relativas a vacunas comestibles, solamente se hace mención a aquellas que por su relevancia cronológica hemos considerado de mayor interés.

Tabla 9.2 Ejemplos de Patentes relativas a vacunas comestibles*				
Nº patente	Título	Fecha de solicitud	Inventores	Solicitante
EP0090617	Vacuna para la prevención o inhibición de la caries dental humana provocada por <i>Streptococcus mutans</i> cariogénico	25/3/1983	Tsurumizu Takashi; Hashimoto Takashi; <i>et al.</i>	Kitasato Inst.
WO9002484	Inmunización oral con plantas transgénicas	5/09/1989	Curtiss Roy III ; Cardineau Guy A	Univ Washington
WO9420135	Vacunas expresadas en plantas	4/3/1994	Lam Dominic Man-Kit; Arntzen Charles Joel; <i>et al.</i>	Edible Vaccines Inc
WO9640229	Vacunas sintetizadas por plantas transgénicas	6/06/1996	Koprowski Hilary; Hooper Douglas Craig; <i>et al.</i>	Univ Jefferson; Us Agriculture

* Las patentes seleccionadas son aquellas cuyas fechas de publicación son posteriores a 1980 y que se han considerado más representativas

Tabla 9.2 Ejemplos de Patentes relativas a vacunas comestibles* (continuación)

Nº patente	Título	Fecha de solicitud	Inventores	Solicitante
US6194560	Inmunización oral con plantas transgénicas.	24/4/1997	Arntzen Charles J Mason Hugh S; Haq Tariq A; <i>et al.</i>	Texas A & M Univ Sys; Univ Tulane; <i>et al.</i>
EP1974744	Inmunización mediante la administración oral de una vacuna con un producto comestible	15/6/2001	Gilad Mali Kezinel Galun Esra Mitchell <i>et al.</i>	Hadasit Med Res Service
WO03013598	Composiciones de vacunas y nuevos métodos de preparación de vacunas para las enfermedades veterinarias y humanas	8/8/2002	Lam Dominic M K, Zeng Fanya, <i>et al.</i>	Lam Dominic M K, Zeng Fanya, <i>et al.</i>
US2005044588	Método y sustancias para la prevención y el tratamiento de enfermedades autoinmunes	17/8/2004	Langridge William H R Arakawa Takeshi	Univ Loma Linda
US2005232949	Vacunas expresadas en plantas	12/5/2005	Arntzen Charles J, Lam Dominic M	Prodigene, Inc
WO2006016380	Una proteína quimérica G para una vacuna en conejos	12/8/2005	Tuli Rakesh; Sawant Samir <i>et al.</i>	Council Scient Ind Res, Unichem Lab Ltd, Indian Veterinary Res Inst
WO2007111500	Inmunización con champiñones transgénicos	27/3/2007	Florack Dionisius Elisabeth An Rouwendal <i>et al.</i>	Plant Res Int Bv
WO2008134643	Antígenos de Trypanosoma, vacunas que los contienen y procesos relacionados	28/4/2008	Knapp Elisabeth Yusibov Vidadi	Fraunhofer USA
WO2009112603	Proteína de fusión con direccionamiento de antígenos vacunales a células presentadoras de antígeno y sus aplicaciones	14/03/2008	Martínez Escribano, JA, Wigdorovitz, A.; <i>et al.</i>	INIA
WO2009026397	Vacunas profilácticas y terapéuticas contra la Influenza, antígenos, composiciones y métodos	20/8/2008	Yusibov Vidadi	Fraunhofer USA
WO2009058355	Cloroplasto con antígenos de la vacuna humana contra la malaria	31/10/2008	Henry Daniell Chakrabarti Debopam	Univ Central Florida Res Found

* Las patentes seleccionadas son aquellas cuyas fechas de publicación son posteriores a 1980 y que se han considerado más representativas

Si se analiza cada uno de estos documentos de patentes, se observa como muchos de ellos se dirigen a la protección de muchas vacunas comestibles que están en fase de investigación clínica, y más particularmente aquellas que son impulsadas por empresas privadas.

No obstante, las patentes, por su propia naturaleza intrínseca están avocadas a un depósito muy incipiente en relación al estado de la investigación, y por norma general, se observa que muchas de ellas protegen más aspectos técnicos de los que finalmente se llevan a la práctica mediante los estudios en fase clínica. Así, se ha hecho especial énfasis en procurar un resumen de aquellas patentes que se han considerado más importantes desde un punto de vista social, dado que muchas de ellas se están poniendo en práctica en experimentación.

Las patentes que se comentan a continuación, siguen un criterio cronológico:

Patente europea EP0090617

La primera patente concedida que se ha encontrado y que guarda estrecha relación con el concepto de vacuna comestible es la patente EP0090617 con prioridad japonesa JP19820047970. Esta patente se refiere a una vacuna que comprende como ingrediente activo células vivas de una cepa mutante humana de *Streptococcus mutans* y que es efectiva para inhibir específicamente el crecimiento de las cepas silvestres cariogénicas de *Streptococcus mutans* que provocan la caries dental. La cepa mutante es sustancialmente deficiente del efecto cariogénico y por lo tanto puede ser aislada de la flora de la mucosa oral de humanos o incluso puede ser inducida artificialmente a partir de cepas cariogénicas salvajes de *S. mutans*.

La cepa mutante no cariogénica presente en esta vacuna se puede utilizar en asociación con un vehículo líquido y, cuando se mezclan estas células con ácido láctico comestible producido por bacilos -por ejemplo, en forma de yogur- los potenciales agentes cariogénicos, tanto de *S. mutans* cariogénico como del ácido láctico producido por los bacilos, previenen o inhiben de manera eficaz la caries.

Estrictamente, esta patente no es una vacuna comestible, pero ya se prevé el uso de material bacteriano obtenido de forma artificial a partir de ingeniería genética para conformar una vacuna que será administrada en forma de alimento.

Solicitud de patente PCT WO9002484

La primera familia de patentes concedidas que se ha encontrado a nivel internacional es aquella que proviene de la solicitud internacional WO9002484, con prioridad de la patente americana US19880240728 solicitada en el año 1988, cuya titularidad es la Universidad de Washington.

Esta invención protege plantas transgénicas que expresan ciertos antígenos seleccionados y aislados de microorganismos patógenos. Esta invención también se dirige a la utilización de tales plantas transgénicas para la inmunización oral tanto de seres humanos como de animales, que son capaces de inducir una respuesta inmune que inhibe la colonización o invasión por estos microorganismos patógenos a través de una superficie de la mucosa.

En esta invención, concedida en varios países, se hace especial énfasis la practicidad del empleo del material vegetal directamente para inmunizar, es decir en que se consumen directamente partes o porciones de dichas plantas modificadas genéticamente para

producir inmunización a nivel de las mucosas. En esta invención se emplea como material vegetal preferido el tomate.

Solicitud de patente PCT WO9420135

La solicitud internacional WO9420135, con prioridad de la patente americana US19930026393, se refiere una vacuna antivírica producida en plantas transgénicas y que se puede administrar a través de un método estándar, por vía parenteral, o por el consumo de partes comestibles de las plantas.

La patente detalla el método empleado para la obtención de esta vacuna haciendo alusión al empleo de secuencias de ADN concretas que codifican para la expresión de un antígeno de superficie de un agente patógeno viral aislado y ligado a un promotor que regula la producción del antígeno de superficie en una planta transgénica. Este gen se transfiere a las células vegetales mediante un proceso que da lugar a su integración en el genoma de la planta, por ejemplo mediante el uso de un plásmido de *Agrobacterium tumefaciens*. Preferiblemente, para esta invención el gen foráneo se expresa en una parte de la planta que es comestible por los seres humanos o por animales. Esta patente protege también un procedimiento preferido, mediante el cual la vacuna se administra a través del consumo de los comestibles de plantas como alimentos, preferentemente en forma de una fruta o jugo de vegetales que se pueden tomar por vía oral sin necesidad de cocinar dichos alimentos.

La importancia de esta patente es que tiene como uno de los inventores al padre del término “vacuna comestible”; Charles Arntzen. Esta patente que inicialmente fue solicitada por la empresa Edible Vaccines Inc., fue posteriormente transferida a la empresa ProdiGene, quien se ha encargado de ponerla en práctica y continuar con las investigaciones de una forma activa sobre todo en los Estados Unidos. Esta patente se

refiere a una vacuna para el virus de la hepatitis B que preferiblemente se expresa en partes comestibles de las plantas tales como frutos, hojas, tallos, raíces o semillas de tres tipos de tejidos vegetales como tomates, patatas y tabaco.

Solicitud de patente PCT WO9640229

Esta invención, que actualmente se encuentra abandonada, se refiere a un proceso para la inducción de inmunidad a un animal mediante el cual se transfiere un gen que codifica para una proteína inmunogénica en una planta MG, de tal manera que la planta transgénica resultante expresa el gen en una forma capaz de inducir una respuesta inmune protectora en un animal. El material vegetal empleado en los ejemplos son plantas de tomate y se hace especial hincapié en que el producto de la presente invención nunca se consume cocinado.

Esta patente por razones que se desconocen, tras haber sido evaluada por la Oficina Europea de Patentes como autoridad internacional de búsqueda y examen, no designó ninguna fase ni nacional ni regional, por lo que se encuentra abandonada.

Patente US6194560

Esta invención se refiere a la producción de coadyuvantes para vacunas orales y para vacunas en plantas transgénicas comestibles, con el objeto de provocar una respuesta inmune en animales que se alimentan a partir de este tipo de vacunas.

La presente invención se refiere más específicamente a la producción de plantas transgénicas usando los genes que codifican las subunidades de toxinas bacterianas LT-A y LT-B o CT-A y CT-B y al uso de la proteína expresada para inducir respuestas inmunes

en mamíferos, sola o con otros agentes antígenos asociados. Por consiguiente, esta invención se refiere a la introducción en plantas de genes que codifican antígenos de colonización o virulencia o porciones antigénicas de los mismos que colonizan o infectan a través de superficies mucosas a mamíferos. Más particularmente, se refiere a la introducción en plantas de genes que codifican proteínas que contienen LT-B o CT-B, de manera que las plantas puedan producir las proteínas que contienen LT-B o CT-B. Esta invención representa además una mejora significativa e inesperada sobre la técnica anterior porque permite la inmunización real de animales contra antígenos bacterianos alimentando a los animales con plantas transgénicas en las que se han expresado niveles suficientes del antígeno bacteriano con el fin de inducir inmunidad.

Esta patente tiene actualmente efectos en España al validarse con el número ES 2235176.

Solicitud de patente EP1974744

Esta invención se refiere a una vacuna producida en plantas comestibles y/o productos de origen animal, así como a un método de desarrollo de la vacuna a través de la producción de al menos una estructura completa de un agente patógeno en una planta transgénica o animal modificado genéticamente. Preferiblemente, la presente invención permite la producción de partículas similares a virus (VLPs) en las plantas así como en sus partes comestibles, a través de la coexpresión de una pluralidad de proteínas y/o de una pluralidad de partes de dichas proteínas. Como fundamento de la presente invención la coexpresión de proteínas virales estructurales deben promover la adecuada presentación de los antígenos virales relacionados con el sistema inmunológico humano, para que provoquen el efecto deseado al ser ingeridos por el animal o el humano.

En relación con la tramitación de esta patente, hay que incidir que en los Estados Unidos ya está concedida con el número US6368602, pero en Europa sin embargo, aún sigue en proceso de evaluación.

Solicitud de patente PCT WO03013598

Esta invención está más íntimamente relacionada con el concepto de “*Molecular Pharming*” dado que no solo se refiere a la ingesta directa de material vegetal sino que hace alusión a que el material vegetal se emplee como hospedador y que sirva como factoría de productos inmunológicos, en particular antígenos (Walmsley y Arntzen, 2003).

Así, esta invención se refiere a una vacuna contra un agente patógeno que se produce en bacterias recombinantes y/o plantas transgénicas, que es apto para poder administrarse a través de método estándar de vacunación por vía oral. Para obtener la vacuna de la presente invención, se selecciona una secuencia de ADN que codifica un antígeno de un patógeno aislado y ligado a un promotor que puede regular la producción del antígeno de superficie en una planta transgénica o bien en una cepa bacteriana. Preferiblemente, el gen aislado se expresa en una parte concreta de la planta que servirá posteriormente para constituir la vacuna que se administrará a través del consumo de las partes comestibles de plantas por vía oral. Desde el punto de vista procedimental, es importante destacar el hecho de que esta solicitud internacional no ha sido extendida a ningún Estado firmante del Tratado de Cooperación de Patentes (PCT) por lo que no ha surtido efectos más allá de la simple solicitud.

Solicitud de patente US2005044588

La presente invención se refiere a una vacuna comestible formada por porciones de planta o plantas completas contra una enfermedad autoinmune que comprende un gen

quimérico para la síntesis de la proteína de fusión CTB (la subunidad beta de la toxina del cólera), o parte de la misma, y un autoantígeno.

La invención se refiere a la expresión de estos genes quiméricos en células vegetales o en plantas transgénicas para la producción de vacunas comestibles. Las vacunas comestibles, de acuerdo con la invención son útiles para tratar enfermedades autoinmunes. Esta patente también hace alusión a un método capaz de producir una planta transgénica útil para expresar la proteína de fusión CTB, que comprende la transformación de una célula de la planta con una construcción de ADN seleccionado y la regeneración de la planta transformada de acuerdo con métodos bien conocidos en el estado de la técnica. El método de transformación con *Agrobacterium tumefaciens* es uno de los métodos preferidos para esta invención, aunque también pueden utilizarse otros transformantes como *Agrobacterium rhizogenes* a parte de otros métodos como bombardeo de partículas, liposomas, y métodos de electroporación.

Los sistemas vegetales preferidos para la transformación son plantas de tabaco, de plátano, de tomate, de patata y de zanahoria. Sin embargo, un aspecto importante de la presente invención es que hace alusión a múltiples procesos genéticos y a construcciones genéticas permitiendo la expresión del autoantígeno de una forma generalizada en múltiples sistemas vegetales mediante el uso de *Agrobacterium tumefaciens* haciendo una revisión exhaustiva de los distintos sistemas vegetales publicados en la fecha de solicitud de esta patente que utilizaban como sistema de transformación a *Agrobacterium tumefaciens*.

Patente US2005232949

La patente US2005232949, es una de las más importantes referidas a vacunas comestibles de los últimos tiempos y más teniendo en cuenta que fue adquirida por la empresa

ProdiGene para su explotación a escala industrial y consecución de los diferentes ensayos clínicos posteriores.

Esta invención, se refiere principalmente a vacunas comestibles contra diferentes virus, producidas a partir de plantas transgénicas y aptas para poder administrarse por vía parenteral o por el consumo de la parte comestible de la planta que porta la vacuna. El método empleado para conseguir estas vacunas consiste en seleccionar una secuencia de ADN que codifica para la expresión de un antígeno de superficie de un agente patógeno viral aislado y ligado a un promotor para regular la producción del antígeno de superficie en una planta transgénica. Este gen se transfiere a las células vegetales mediante un proceso que da lugar a su integración en el genoma de la planta, por ejemplo mediante el uso del plásmido *Ti* de *Agrobacterium tumefaciens*. Preferiblemente, el gen foráneo se expresa en una parte de la planta que es comestible por los seres humanos o los animales, preferentemente en frutos o jugos vegetales que se pueden tomar por vía oral.

Un matiz importante al que hace alusión la presente patente es, que los alimentos transgénicos que se ingieren mantienen las propiedades nutricionales. Así, en la propia descripción de la patente se especifica que la composición de alimentos que deben ser ingeridos para promover una respuesta inmunológica y que comprenden al menos una parte de una planta transgénica, deben ser apetecibles por su valor nutricional.

Desde un punto de vista de tramitación, la presente invención en Europa ha sido revocada por lo que no surtirá efectos en el territorio del EPC (European Patent Convention), sin embargo sí está concedida en Estados Unidos con el número de publicación US7504560.

Solicitud de patente PCT WO2006016380

Esta invención tiene gran importancia porque simboliza los esfuerzos realizados por varios grupos indios de investigación sobre esta materia. Esta invención se refiere a una proteína quimérica del virus de la rabia diseñada para expresar una proteína G quimérica en plantas transgénicas con un elevado nivel de expresión en el tejido vegetal.

El gen seleccionado se expresa en plantas de tabaco modificadas genéticamente para examinar su eficacia terapéutica contra la infección provocada por el virus de la rabia. En los ensayos de realización expuestos en la presente patente, se observa un alto grado de inmunización de los ratones ensayados, por ello en la descripción de la patente se hace un énfasis especial sobre el hecho de que esta vacuna será muy útil para prevenir de la rabia a animales de compañía.

Solicitud PCT WO2007111500

Esta invención es importante porque se refiere a la expresión de proteínas antigénicas en setas como sistemas vegetales, refiriéndose a la producción de vacunas que producen inmunización cuando se administran por vía mucosa a partir de diferentes tipos de basidiomicetos. El procedimiento utilizado para obtener la vacuna comprende la introducción en una célula huésped de basidiomicetos de una secuencia de ácido nucleico que codifica para una proteína inmunogénica que comprende una secuencia de aminoácidos en la que al menos el 70% guarda homología con una subunidad de la enterotoxina termolábil (LT) de *E. coli* o bien con una subunidad de la toxina del cólera (TC) de *Vibrio cholerae*, permitiendo la expresión de dicha secuencia de ácido nucleico y la obtención de las células del huésped basidiomicetos con la capacidad de expresar la proteína inmunogénica.

La presente invención también hace alusión al uso de basidiomicetos como un sistema de expresión recombinante para la producción de una vacuna comestible, en la que de forma preferida el basidiomiceto es consumido por vía oral y es capaz de producir cuerpos fructíferos, como *S. commune* o de *P. ostreatus*, así como un método para la inmunización a través de las mucosas que comprende administrar a dicho sujeto, al menos una dosis de una cantidad efectiva de basidiomicetos susceptible de producir una respuesta inmune.

Solicitud PCT WO2008134643

La presente invención se enmarca en los campos de la inmunología y de la ingeniería de proteínas, y en particular se refiere a la expresión de antígenos y producción de vacunas útiles en la prevención de la infección por el protozoo *Trypanosoma cruzi* a partir de plantas modificadas genéticamente.

Esta invención también protege cualquier planta susceptible de incorporar moléculas de ácido nucleico heterólogo que sean capaces de producir proteínas heterólogas, que en general, crecen bajo condiciones definidas, por ejemplo, en un invernadero. Para algunas realizaciones específicas de esta invención, es conveniente emplear plantas comestibles y más en particular aquellas que expresan polipéptidos en las partes comestibles.

De forma concreta, para esta invención se pueden utilizar los siguientes sistemas vegetales: angiospermas, briofitas (por ejemplo, musgos), pteridofitas (por ejemplo, helechos, colas de caballo, etc.), gimnospermas (por ejemplo, coníferas, Ginkgo, etc.), y algas (por ejemplo, *Chlorophyceae*, *Phaeophyceae*, *Rhodophyceae*, *Myxophyceae*, *Xanthophyceae*, y *Englenophyceae*).

Ejemplos de plantas utilizadas son leguminosas (*Fabaceae*, por ejemplo, alfalfa, soja), las gramíneas (*Poaceae*, por ejemplo, maíz, trigo, arroz), de las solanáceas, especialmente de género *Lycopersicon* (por ejemplo, tomate), *Solanum* (por ejemplo, patata y berenjena), *Capsium* (por ejemplo, pimienta), o *Nicotiana* (por ejemplo, tabaco); *Umbelliferae*, en particular del género *Daucus* (por ejemplo, zanahoria), *Apium* (por ejemplo, apio), o *Rutaceae* (por ejemplo, naranjas), compuestas, en particular del género *Lactuca* (por ejemplo, la lechuga), *Brassicaceae* (*Cruciferae*), especialmente del género *Brassica* y *Sinapis*.

En muchas ocasiones, las plantas de la invención pueden ser plantas del género *Brassica*, o *Arabidopsis*. Algunos miembros de la familia *Brassicaceae* incluyen *B. campestris*, *B. carinata*, *B. juncea*, *B. napus*, *B. nigra*, *B. Oleraceae*, *B. tournifortii*, *Sinapis alba*, y *Raphanus sativus*. Algunas plantas comestibles incluyen alfalfa, frijol rábano, trigo, mostaza, espinacas, zanahoria, remolacha, cebolla, ajo, apio, ruibarbo, plantas de hoja verde como la col o la lechuga, berros, perejil, menta, trébol, coliflor, brócoli, soja, lenteja, girasol, guisantes, etc.

Solicitud PCT WO2009112603

Esta invención se relaciona con un método, alternativo a los existentes en el estado de la técnica, que aumenta la efectividad de las vacunas de subunidades recombinantes cuando éstas son aplicadas en distintas especies, tanto en animales en general, como en humanos en particular. Mediante el método de esta invención -basado en el direccionamiento de antígenos a sus células presentadoras- se consiguió potenciar la respuesta inmune mediada por el hospedador a la vez que se disminuyó la dosis de vacuna aplicada, igualando o superando la respuesta inmune conseguida mediante la aplicación de vacunas convencionales.

El sistema de direccionamiento de antígenos vacunales a las células presentadoras de antígeno propuesto por esta invención está constituido por una proteína de fusión que comprende al menos un polipéptido (A) que presenta una región que reconoce un epítipo presente en la superficie de una célula presentadora de antígeno, y otro polipéptido (B) que es el antígeno vacunal de interés, responsable de desencadenar la respuesta inmune en el hospedador.

Además, la presente invención se refiere a vectores recombinantes útiles para la expresión de la construcción génica de la invención, células y plantas transgénicas transformadas o transfectadas con dichos vectores, proteínas de fusión codificadas por la construcción génica de la invención y vacunas que comprendan dichas proteínas de fusión. En particular el sistema vegetal empleado como planta transgénica ha sido *Arabidopsis thaliana*.

Solicitud PCT WO2009026397

La presente invención proporciona vacunas con antígenos de la gripe, secuencias antigénicas y regímenes de dosificación. La presente invención también proporciona polipéptidos del antígeno de la gripe, tales como polipéptidos hemaglutinina y/o neuraminidasa, así como vacunas de subunidades de antígenos de la gripe. Las vacunas de subunidades, de conformidad con la presente invención típicamente comprenden al menos una planta para la producción de al menos uno de los polipéptidos del antígeno de la gripe y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En algunas realizaciones particulares de esta patente, la composición de la vacuna tiene gran capacidad inmunogénica cuando se administra a un sujeto a dosis relativamente bajas. En esta solicitud, también se protegen métodos para inducir una respuesta inmune protectora contra la infección de la gripe en un sujeto que consiste en administrar una

cantidad efectiva de una composición de la vacuna que contiene el polipéptido del antígeno de la gripe.

La presente invención también proporciona métodos y sistemas para la producción de polipéptidos del antígeno de la gripe en plantas modificadas genéticamente. Tales métodos implican generalmente el uso de vectores de expresión viral, como por ejemplo vectores binarios. En algunas realizaciones particulares de esta patente, los polipéptidos del antígeno de la gripe se producen en plantas jóvenes (por ejemplo, las plántulas germinadas) que pueden ser consumidas directamente, como los brotes de soja.

Solicitud PCT WO2009058355

Esta invención, se refiere a un método mediante el cual se obtiene una vacuna comestible contra la malaria. Este método proporciona una planta modificada genéticamente de forma estable mediante la inserción en su genoma de fragmentos de ADN para que la planta exprese un polipéptido antigénico de malaria.

Mediante esta invención se consigue una transformación estable de la planta que expresa en cada cosecha cantidades suficientes del polipéptido antigénico capaz de inducir una respuesta inmune frente a la malaria. A través de estas plantas se consiguen vacunas comestibles eficaces que producen un aumento de los anticuerpos contra la malaria.

La vacuna comestible objeto de esta invención expresa los antígenos en las hojas de forma selectiva, en particular la subunidad B de la toxina del cólera o un polipéptido antigénico de la malaria. La planta utilizada como sistema de expresión es *Nicotiana Tabaccum*.

9.3. ACEPTACIÓN SOCIAL DE LAS VACUNAS COMESTIBLES COMO PRODUCTOS AGROBIOTECNOLOGICOS.

Los avances de la ciencia y la tecnología han sido enormes en los últimos veinte años, permitiendo el uso corriente de las técnicas de ingeniería genética para mejorar, entre otros aspectos, el tratamiento de enfermedades y el acceso a medicamentos de última generación a poblaciones emergentes. Por ello, es importante considerar que la biotecnología tal y como la consideramos actualmente, es una tecnología horizontal, que posee la capacidad de afectar a prácticamente todos los sectores de la actividad humana, lo que la distingue como una de las tecnologías de mayor peso económico y relevancia social en el contexto de finales del segundo milenio (Luján y Moreno, 1993).

La explosión del debate social sobre la biotecnología se inició hace unos 25 años y se asocia con el nacimiento de la biotecnología moderna. Desde la demostración científica de que era posible modificar la dotación génica de los organismos vivos, en un principio con la aplicación a organismos unicelulares o microorganismos, a mediados de los setenta, el tema ha estado sujeto a un profundo mar de emociones (Muñoz, 2001).

Sin embargo, aunque es una herramienta ampliamente aceptada en el sector sanitario, la aplicación de la biotecnología para la obtención de alimentos o ingredientes alimentarios, despierta sentimientos contradictorios -como temores y esperanzas- basados tanto en mitos como en prejuicios de distinta índole. Por ello, de forma paradigmática, la aplicación de la moderna biotecnología para la obtención de productos farmacéuticos, es aceptada sin reservas por los diferentes actores sociales, por el simple hecho de que supone una mejora de los tratamientos terapéuticos y por consiguiente mejora la calidad de vida de las personas.

Esto es así en gran medida, por la controversia que existe en torno a la aceptación de los productos que se obtienen mediante la aplicación de la biotecnología moderna, teniendo en cuenta que se pueden percibir de dos formas: con un impacto directo (en el caso de biotecnología sanitaria) o con un impacto indirecto (biotecnología alimentaria) sobre la salud.

En el caso de la biotecnología alimentaria, la introducción de técnicas de ingeniería genética supone un cambio conceptual de una tecnología existente, ya que para la gran mayoría de los diferentes actores sociales, ésta es tomada con cierto escepticismo debido a una sobrevaloración de los riesgos derivados de su consumo.

Esto significa que, con independencia del valor nutritivo, los alimentos tienen connotaciones sociales e históricas, y en el caso de la biotecnología aplicada a la obtención de determinados alimentos, puede provocar incluso una respuesta negativa entre los consumidores (Cámara, 2006b).

El debate social generado alrededor de los organismos modificados genéticamente (OMGs) derivados de la aplicación de la moderna biotecnología, es un ejemplo más de la confrontación entre la ineludible marcha del progreso científico-técnico y los temores que un progreso incontrolado genera en las sociedades avanzadas.

Por ello, a pesar de que los avances científicos pueden ser muy rápidos, la modificación de la percepción social es un proceso más lento y, aunque el desarrollo del sector biotecnológico pueda suponer un impacto económico de gran potencial, este desarrollo va a depender en gran medida de la aceptación social que se haga del mismo (ASEBIO, 2005).

Un claro ejemplo al que se puede hacer alusión como modelo de aceptación social de un alimento modificado genéticamente, es el maíz BT, que comenzó a cultivarse en España en 1998 y que generó un gran debate social que condicionó su adopción en la sociedad española. En este sentido, el estudio acerca de la problemática de la introducción del maíz modificado genéticamente en España realizado por Alcalde (2009), concluye que los factores que determinaron su adopción se agrupan en tres conjuntos principales:

- Los factores tecnológicos inherentes a la modificación genética de plantas en general y de su aplicación concreta en el maíz Bt.
- Los factores regulatorios que han configurado el marco legal que se aplica a todas las actividades con OMGs. La biotecnología es un sector muy fuertemente regulado y su desarrollo normativo determina sus posibilidades de desarrollo.
- Los factores sociales o de percepción pública de la biotecnología.

Esto confirma que la nueva biotecnología es una herramienta compleja en la que la percepción pública juega un papel muy notable respecto a la aceptación del producto, de forma que el acercar al consumidor esta nueva biotecnología, supone facilitar el debate acerca de sus aplicaciones, así como de los retos éticos, sociales, económicos, legales o científicos que conlleva.

Por ello, los avances de la ciencia y la tecnología se ven condicionados por ciertos factores sociales, éticos y humanos, íntimamente relacionados con el tiempo en el que somos capaces de afrontar el progreso y continuar con nuestras vidas incorporando dichos avances en nuestro entorno cotidiano.

El desarrollo de la biotecnología como innovación tecnológica y la complejidad de sus consecuencias sociales, económicas, ambientales, políticas y éticas, han conformado en la sociedad una nueva situación para la ciencia y la tecnología. Además, la opinión pública se considera como un factor cada vez más importante en la toma de decisiones referidas a la dirección del avance y al impacto del conocimiento (Cámara, 2006b).

El incremento del rol de la biotecnología en la sociedad, y el desarrollo de la investigación en dos campos diferentes como la alimentación y la salud, han creado el marco adecuado para poder reflexionar sobre la percepción de la misma (Gaskell *et al*, 2000; 2001).

Además, este hecho se refleja recientemente, cuando en marzo de 2010, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), en colaboración con el Gobierno mexicano, realiza una conferencia técnica internacional sobre “*Biotecnología agrícola en los países en desarrollo: opciones y oportunidades*”, abordando expresamente la importancia de todos los roles de la biotecnología como herramienta para hacer frente a muchos desafíos tecnológicos, como el suministro alimentario y el cambio climático.

De acuerdo con los aspectos promovidos por la propia FAO, para muchos países, la agricultura ejerce un impacto directo en la economía rural, de ahí que la inversión en la agricultura sea fundamental y deba estar en el centro de cualquier estrategia destinada a aliviar el hambre y la pobreza en el mundo. Sobre todo, y centrándose en los países en vías de desarrollo, las medidas necesarias deben ir mucho más allá del simple hecho de producir más productos alimenticios y agrícolas, haciendo un esfuerzo por impulsar la productividad de las explotaciones de los pequeños agricultores a través buenas prácticas y de la implementación de tecnologías mejoradas, como la Agrobiotecnología.

Relacionado directamente con el compromiso de la FAO, se encuentran los resultados recién publicados por el último Eurobarómetro publicado en marzo de 2010, sobre “Agricultura y política común agraria”. En base estos datos, se observa como una mayoría abrumadora (un 90%) considera la agricultura como un factor clave para el futuro. Además, existe un consolidado segmento de encuestados (un 77%) que considera que los agricultores europeos deben aprovechar los avances agrobiotecnológicos para poder ser competitivos a escala internacional (Comisión Europea, 2010).

Aunque este Eurobarómetro, se centra en disposiciones tan importantes como el cambio climático, una gran mayoría de los encuestados (un 82%) coincide en que la Unión Europea necesita ayudar a los agricultores para que puedan cambiar su forma de trabajo y así hacer frente a los retos del futuro, ya que consideran (un 77%) que la agricultura sufrirá en los próximos años los duros efectos del cambio climático, lo que requerirá que los agricultores cambien sus formas de cultivo e incorporen técnicas agrobiotecnológicas.

De acuerdo con la percepción de la sociedad española, una gran mayoría (un 92%) de los encuestados considera que la agricultura es importante o muy importante para el futuro, entendiendo (un 52%) que las acciones políticas deberían centrarse en garantizar unos precios asequibles a los consumidores y en garantizar un nivel de vida equitativo para los agricultores, para lo cual la biotecnología es una alternativa.

9.3.1. Alimento vs Medicamento

Un factor importante a tener en cuenta en los estudios de percepción de la biotecnología es que ésta es una tecnología muy compleja, por lo que es muy fácil encontrarse con una parte importante de la población encuestada con muy escaso conocimiento, pero deseosa

de participar y de manifestar sus legítimas opiniones (Muñoz 2003a, 2003b y 2004). Sin embargo, cuando se realizan diferentes encuestas -frente a un mismo nivel de conocimiento científico de los encuestados- la aceptación de la biotecnología siempre es mayor en el caso de la biotecnología aplicada a la salud, en contraposición a la biotecnología aplicada a los alimentos (Monsalve *et al*, 2004). Es por ello que, aunque la tendencia de las últimas encuestas constata que los ciudadanos perciben cada vez con mayor claridad los efectos positivos de la ciencia y de la tecnología, también les preocupa el impacto negativo que les lleva a enfrentarse a dilemas como: modificación genética de plantas frente a seguridad de los alimentos (Cámara y Monsalve, 2004).

Así, en el estudio “Análisis de la percepción social de la biotecnología” realizado por la Fundación Víctor Grífols y el Centro de Referencia en Biotecnología (CeRBa) de la Generalidad de Cataluña en 2001, se establece que la percepción social de las diversas aplicaciones de la biotecnología es diferente dependiendo del área en la que se aplique, aunque las técnicas utilizadas sean similares. En este sentido, al plantear el caso de una vacuna comestible, existe la posibilidad de que los diferentes actores sociales las valoren positiva o negativamente desde dos perspectivas enfrentadas: bien como alimentos o bien como medicamentos.

En el caso de que se consideraran únicamente alimentos modificados genéticamente, aunque la propia Organización Mundial de la Salud declaró en el año 2002 que no se ha podido demostrar que los alimentos transgénicos supongan un riesgo mayor que los convencionales (OMS, 2002), posiblemente y, haciendo una extrapolación de los datos publicados por diversas encuestas, los actores sociales rechazarán esta alternativa tecnológica por el simple hecho de ser un alimento (Gaskell, *et al*, 2006). Sin embargo, si se consideraran como una alternativa terapéutica de bajo coste, posiblemente la sociedad

lo aceptaría sin darle mayor importancia, y más teniendo en cuenta que es un “medicamento” establecido para su desarrollo y escalado en países en vías de desarrollo.

Si observamos los datos ofrecidos por Gaskell y colaboradores en 2006, basado en los datos obtenidos del Eurobarómetro de 2005, observamos como los alimentos modificados genéticamente tienen mucha peor aceptación que tecnologías basadas en técnicas equivalentes de ingeniería genética mucho más complejas y con un nivel de riesgo similar, tales como la farmacogenética (figura 9.2).

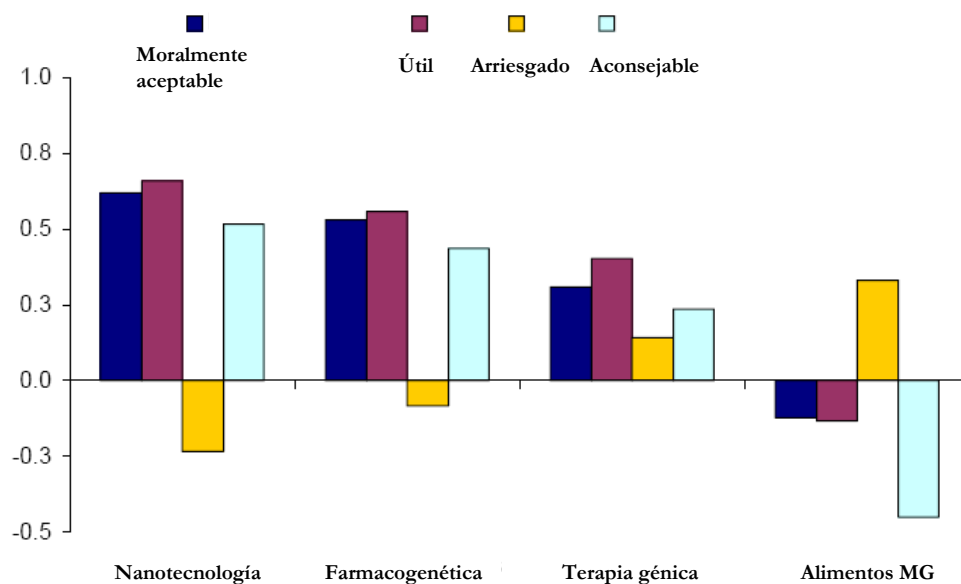


Figura 9.2 Evaluación de 4 tecnologías según el Eurobarómetro de 2005

Fuente: Basado en Gaskell, et al., 2006

Estas dos alternativas conceptuales (alimento Vs medicamento), vienen motivadas por factores humanos que contraponen sociológicamente dos aspectos: nutrición frente a tratamiento terapéutico. De manera que, cuando se plantea la posibilidad de ingerir un alimento modificado genéticamente, al existir otras alternativas nutricionales, éste se rechaza. Sin embargo, si analizamos este aspecto desde un punto de vista terapéutico, siempre será más aceptado socialmente.

Para intentar dar una explicación plausible a estas diferencias, Gaskell *et al.*, en 2004 consideraron que la gran confusión que existe en la interpretación de la percepción del riesgo planteando la hipótesis de que más allá del riesgo, en el caso de los alimentos modificados genéticamente, la percepción negativa es debida a la consideración de ausencia de beneficios directos para el consumidor europeo, ya que el binomio riesgo / beneficio no es equiponderante, lo que significaría que en general la consideración de los beneficios potenciales es el factor determinante.

Esta interpretación conceptual, se intensifica si incluimos un tercer factor condicionante; como es el entorno geográfico. Así, podríamos explicar que los consumidores de países desarrollados (Europa en el caso del informe anteriormente mencionado) perciben una ausencia de beneficios -para el caso de las vacunas comestibles como alimentos modificados genéticamente- y muchos riesgos potenciales, especialmente si el marco geográfico en el que se va a desarrollar la tecnología está próximo o cercano a su entorno. Este hecho, hace que el consumidor no perciba ningún beneficio aparente desde el punto de vista nutricional, en contraposición a la percepción de un riesgo innecesario al que tiene que exponerse por la cercanía geográfica.

El trinomio (riesgo/beneficio/factor geográfico) está íntimamente ligado a la corriente social que hoy se conoce como “efecto NIMBY” (siglas de su acepción anglosajona: *Not*

in my backyard) por el que se levantan resistencias sociales de manera espontánea frente a determinadas políticas con incidencia territorial (efecto geográfico) que representan una dificultad añadida al desarrollo de las nuevas tecnologías, por el simple hecho de que no se perciben grandes beneficios, pero sí muchos riesgos.

El movimiento NIMBY simboliza el rechazo a ciertas tecnologías próximas a un entorno geográfico determinado de forma no fundamentada por una percepción exacerbada del riesgo, promoviendo un debate social que lleva a un fenómeno de oposición frente a tecnologías como parques eólicos, vertederos controlados, infraestructuras de tratamiento de aguas, centrales generadoras, obras de mejora de los sistemas urbanos, etc., aunque sean necesarias y demandadas por los ciudadanos. Sin embargo, el efecto NIMBY no analiza si los beneficios revierten o no sobre los actores sociales que rechazan la cercanía de dicha tecnología, suponiendo que, en la mayoría de los casos, los que las rechazan cerca, no persiguen beneficiarse de los efectos positivos de las mismas de forma directa (Van der Horst, 2007).

Esta corriente, que puede castellanizarse con el acrónimo SPAN (*Sí, Pero Aquí No*), pone de manifiesto la necesidad de una nueva forma de entender y conocer la tecnología para que, desde ese conocimiento se puedan interpretar y percibir con claridad los posibles riesgos y beneficios, que inclinarán la balanza a favor o en contra de la aceptación social.

Para minimizar o limitar este efecto, es necesario aportar razones claras y lógicas sobre la necesidad del establecimiento cercano de una tecnología. Estas razones cobran peso cuando son promovidas por agentes sociales objetivos y de referencia, como investigadores o líderes de opinión, que no guarden ningún tipo de relación ni con el entorno geográfico en el que se va a ubicar la tecnología ni con la obtención de beneficio alguno por la elaboración de sus informes (Cuppen *et al.*, 2009).

La expresión extrema de esta corriente es conocida con los términos NIABY (acrónimo de su expresión anglosajona: *Not In Anyone's Backyard*) y BANANA (acrónimo de su expresión anglosajona: *Build Absolutely Nothing Anywhere Near Anything*) que simbolizan el rechazo más absoluto a ciertas prácticas que el ser humano no acepta en ningún entorno geográfico, por cercano o alejado que se encuentre (Fischer, 2000; Markley, 2002).

Nuevamente, en relación con el factor geográfico, se encuentran situaciones paradójicas en la sociedad globalizada en la que vivimos, por las que ciertos individuos de una población determinada ignoran asuntos relevantes para otros grupos sociales, al no considerarlos especialmente importantes.

Estos movimientos de aceptación social, en el caso de la Agrobiotecnología, tuvieron una marcada generalización para la sociedad europea durante el periodo 1998 y 2004 en donde se impuso la “moratoria de facto” por la que no se permitía la autorización de nuevos cultivos modificados genéticamente, en tanto en cuanto, la gran mayoría de la sociedad europea rechazaba este tipo de cultivos y de productos de una forma generalizada.

Si observamos estos efectos con una perspectiva sanitaria y extrapolamos la teoría de Gaskell *et al.* (2004) a las vacunas comestibles como medicamentos, el resultado del trinomio cambia sustancialmente. Así, por ejemplo, si el consumidor de las sociedades desarrolladas entendiera que las vacunas comestibles pueden ser una alternativa terapéutica para favorecer a muchas personas que no tienen acceso a un sistema sanitario y, que además, se puede hacer uso de las mismas en un entorno geográfico muy alejado (el tercer mundo, por norma general), cabe esperar que el resultado sea significativamente distinto, encontrando más beneficios que riesgos.

Buscando una lectura optimista de esta situación, hay que considerar que en general existe una sobrecarga de información calificada de “urgente” o “importante” y, muchas veces los propios individuos afectados no son capaces de discernir lo realmente importante de lo que no lo es. A esta situación se le une el que, en la mayoría de los casos, ante la imposibilidad de solucionar las posibles consecuencias negativas derivadas de un efecto concreto, los individuos tienden a inhibirse y pasan a considerar la cuestión ajena a sí mismos como “un problema de otros”, sin darse cuenta de que, en una sociedad globalizada, finalmente todos los problemas acaban siendo comunes.

Esta aproximación teórica, se intensificaría para los países desarrollados en el marco temporal actual, teniendo como punto de partida las últimas crisis sanitarias relacionadas con la gripe aviar y la gripe A, en donde se ha motivado la necesidad de vacunación generalizada tanto para los países desarrollados, como herramienta de prevención, como para los países en vías de desarrollo no solo como herramienta preventiva sino también para impedir enfermedades endémicas que puedan afectar a los países industrializados.

Este último supuesto, en el caso de las vacunas comestibles, introduciría un fenómeno diferente, aunque cercano conceptualmente al movimiento NIMBY, puesto que los beneficios de dichos cultivos OMGs revertirían sobre los mismos actores sociales que reniegan de dicha tecnología en un entorno cercano.

En el informe “Plants for the future”, elaborado por la Comisión Europea en 2004, se pretende dar una visión del impacto de la biotecnología y de la genómica de plantas en Europa, de aquí al año 2025. En este informe, se indica que la futura competitividad de la agricultura y de la industria agroalimentaria europea, dependerá de la aplicación inteligente de estas nuevas tecnologías, que hasta el momento, se están desarrollando de forma vertiginosa en otras zonas del mundo, pero que por el contrario, Europa se está quedando

atrás como consecuencia de la inercia política debida a la polaridad y al acaloramiento del debate que está teniendo lugar.

En este informe, también se hace alusión al factor geográfico, indicando que los objetivos sobre los cuales debe enfocarse Europa para lograr competitividad en el sector agrícola, están encaminados hacia la necesidad de aumentar la productividad y la diversidad de los cultivos, teniendo en cuenta el fuerte incremento de la población europea, así como, hacia alcanzar un suministro alimenticio seguro y saludable para garantizar la sostenibilidad.

Sin embargo, volviendo a otro de los factores que conforman el trinomio beneficio/riesgo/factor geográfico; como recomendación, se hace una indicación expresa a los ciudadanos para que no pierdan de vista las enormes recompensas sociales, económicas y medioambientales que pueden generar del uso de la Agrobiotecnología, inclinando la balanza a favor de los beneficios. Así, la clave, según este informe, está en diseñar una regulación adecuada, acompañada de los debidos controles científicos que permitan garantizar la seguridad del consumidor, ya que solo así la UE podrá equilibrar la obtención de beneficios con la reducción de los obstáculos medioambientales y éticos –los riesgos- que se pueden plantear.

Bajo el prisma conceptual de que las vacunas comestibles se consideren biofármacos, es necesario citar que el grupo más representativo a favor de esta estrategia es el denominado “consorcio o proyecto Pharma-Planta” (ver el apartado 7.4.2), que tiene el objetivo de desarrollar fármacos y vacunas usando cultivos modificados genéticamente, haciendo especial énfasis en los beneficios reportados a los PVD, para los que existirá un acceso libre a las tecnologías desarrolladas en el marco de dicho proyecto, incentivando de este modo el factor geográfico como parte del trinomio citado anteriormente.

Sin embargo, a pesar del impulso de dicho proyecto, Europa sigue sufriendo un retraso en la implantación de estos sistemas, fundamentalmente debido a la moratoria que impedía el uso de nuevos OMGs, lo que trae consigo que el desarrollo de plataformas biotecnológicas para la producción de proteínas recombinantes en plantas, se encuentre liderado por los Estados Unidos y por Canadá, donde ya existen productos comerciales y vacunas comestibles en fase clínica de investigación.

Además, en Europa la legislación aplicable a las plantas como biofactorías, condiciona extraordinariamente los sistemas de producción ya, que la normativa referente al control de las actividades en las que se produzcan o empleen OMGs es muy estricta, existiendo un riguroso control para que todas las actividades se lleven a cabo en condiciones en las que los riesgos para la salud y para el medio ambiente sean mínimos.

Sin embargo, según el informe ISAAA 2010, es necesario resaltar que a pesar de este retraso, incluso en Europa los cultivos de OMGs están en auge (desde 1996 hasta 2009) y han proporcionado importantes beneficios económicos y medioambientales tanto para PD como para países emergentes (PVD), donde millones de agricultores pobres además han obtenido beneficios sociales y humanitarios que han contribuido a paliar su pobreza.

Según los informes de la FAO depositados en la base de datos FAO BioDeC (Biotechnology in Developing Countries), estos desarrollos son una realidad y por ello ya existe un grupo de países, calificados como emergentes, con programas de biotecnología desarrollados como Argentina, Brasil, México, Cuba, Egipto, Sudáfrica, India y China, e incluso países de renta más baja, que ya han conseguido sacar adelante programas de mediana escala como Zimbabue, Bangladesh, Ecuador o Marruecos.

Bajo el paraguas de la ambigüedad conceptual de lo que simboliza una vacuna comestible, parece oportuno resaltar los beneficios sociales que ofrecen como productos farmacéuticos en los que se mantienen preservadas las propiedades nutricionales, para aquellos países en vías de desarrollo, convirtiéndose en un arma para luchar contra la pobreza y la enfermedad, conservando sus recursos naturales y protegiendo su biodiversidad. Así, aunque la brecha que separa a los países ricos de los pobres parece ampliarse cada vez más en la mayoría de los ámbitos económicos, sociales o tecnológicos, en lo que se refiere a los cultivos OMGs como biofactorías, representa una esperanza en la que confluyen intereses compartidos para las naciones en vías de desarrollo e industrializadas.

Por todo lo anterior, a pesar de que la aceptación social de ciertas prácticas biotecnológicas es variable en función del tipo de práctica tecnológica (alimento Vs medicamento), de la percepción de los riesgos y del entorno geográfico en el que se implantan dichas tecnologías, la realidad es que cada vez existen más cultivos OMGs, tanto para fines alimentarios como para fines sanitarios.

10. CONCLUSIONES Y REFLEXIÓN FINAL

10.1. CONCLUSIONES

Del trabajo realizado para dar cumplimiento a nuestro objetivo principal: el estudio de la producción de vacunas comestibles a partir de plantas modificadas genéticamente, su marco legislativo y las connotaciones socioeconómicas, podemos extraer las siguientes conclusiones:

ESTUDIO DE LAS PLANTAS COMO BIOFACTORIAS

(1) Dentro de las proteínas expresadas en plantas podemos diferenciar aquellas sin carácter inmunológico como son: la producción de hirudina, seroalbúmina, interferón, insulina, lactoferrina, glucocerebrosidasa, aprotinina, avidina, proteína β -amiloide y factores de crecimiento, entre otros. Y aquellas con carácter inmunológico, incluyendo los anticuerpos; también denominados planticuerpos (empleados para prevención, tratamiento y diagnóstico de muchas enfermedades de origen inmunológico), y la producción de proteínas con carácter antigénico.

ASPECTOS CIENTÍFICOS DE LAS VACUNAS COMESTIBLES COMO MODELO DE VACUNACIÓN

(2) Consideramos como “vacunas comestibles” a la expresión de proteínas de carácter antigénico en plantas modificadas genéticamente de forma que su consumo directo permite generar resistencia frente a un agente infeccioso. Las vacunas comestibles presentan una serie de ventajas industriales relacionadas con el ahorro en procesos de purificación y extracción de los compuestos antigénicos expresados en las mismas, así

como el ahorro logístico derivado del transporte, acondicionamiento, cadena de frío y almacenamiento, que se evita al consumir el material vegetal fresco directamente desde la planta.

(3) Los cultivos más estudiados hasta el momento en función del tejido en el que se expresa la proteína son los siguientes:

- Plantas en las que se produce la acumulación de proteínas principalmente en el tejido foliar, como es el caso del tabaco, alfalfa, lechuga o espinaca, además de hojas de tomate.
- Cultivos en los que la acumulación de la proteína recombinante se realiza en las semillas como es el caso de las leguminosas de grano (soja) y los cereales (maíz y arroz).
- Plantas en las que la acumulación de la proteína recombinante se realiza en órganos comestibles, que pueden consumirse crudos o con un procesado mínimo, y que, principalmente están más al alcance del paciente, como son la banana, patata, zanahoria y el tomate.

(4) Uno de los factores críticos en las vacunas comestibles es la expresión de una cantidad de proteína suficientemente elevada en el tejido vegetal. La estrategia para aumentar los niveles de expresión de las proteínas de interés es la realización de un diseño cuidadoso del transgén que se va a introducir. Y para evitar su degradación, la principal estrategia consiste en el direccionamiento de las proteínas hacia compartimentos celulares en los que se encuentren protegidas de la misma.

(5) Las vacunas que actualmente se encuentran en fase de investigación clínica y preclínica son las siguientes:

- Vacuna contra el virus de la Hepatitis B, expresando de forma estable un poliepítipo HIV-1 asociado con hepatitis B en hojas de lechuga y tomate, o el antígeno de superficie (HBsAg) del virus modificado de hepatitis B en semillas de arroz, y patata.
- Vacuna contra gastroenteritis causadas por el virus Norwalk, mediante la expresión de la proteína de la cápside ó de una proteína de superficie (VLPs) del virus Norwalk (rNV) en hojas de tabaco, patata y fruto del tomate.
- Vacuna contra la enteritis producida por E. Coli, mediante la expresión de la subunidad B de la toxina lábil al calor de Escherichia coli (LT-B) en zanahoria, arroz, soja y hojas de lechuga.
- Vacuna contra el cólera producido por Vibrio cholerae, expresando el componente no tóxico de la toxina del cólera (la subunidad CT-B de la toxina B de cólera), en patata, tomate y arroz.

(6) Los estudios clínicos más avanzados se encuentran en los EEUU, en donde existen ensayos clínicos en fase II promovidos y dirigidos por la empresa Azbio de Arizona para prevención de la Hepatitis B, con antígenos de superficie HBsAg expresados en patata. Si bien, esta inmunogenicidad se pierde sustancialmente tras su tratamiento térmico por lo que se recomienda que se seleccionen cultivos de consumo en fresco.

ASPECTOS REGULATORIOS

(7) Las vacunas comestibles se pueden considerar como desarrollos de la biotecnología moderna regulados por el Reglamento (CE) 258/97 sobre Nuevos Alimentos e Ingredientes Alimentarios, y por toda la legislación posteriormente desarrollada relativa a los OMGs. Sin embargo, a día de hoy existe un vacío legal en relación con la normativa

que regula la comercialización de las vacunas comestibles, ya que por un lado se pueden considerar “medicamentos” y por otro lado “alimentos”.

(8) Las vacunas comestibles se ven afectadas por la Directiva 98/44/CE como invenciones biotecnológicas y pueden considerarse patentes de producto, de procedimiento y de uso, indistintamente. Sin embargo, existe mucha discusión sobre nivel de protección conferido por una patente biotecnológica, es decir, si se obtiene exclusividad sobre cualquier tipo de uso que se pueda dar a la secuencia genética reivindicada o si, por el contrario, la protección se limita únicamente al uso indicado expresamente en la solicitud de patente.

(9) Las vacunas comestibles también pueden considerarse obtenciones vegetales (reguladas en España por la Ley 3/2000). Por ello, conviven patentes que protegen modificaciones genéticas aplicables a una pluralidad de variedades vegetales y los títulos de obtención vegetal para aquella variedad vegetal particular que incorpora el evento o los eventos objeto de patente. Así, cuando una obtención vegetal o una nueva invención no puedan explotarse sin menoscabo de los derechos conferidos por una protección anterior, el titular de la obtención vegetal o de la nueva invención podrá solicitar una licencia obligatoria no exclusiva, mediante el pago de un canon adecuado, con el fin de no lesionar derechos cruzados entre patentes y variedades vegetales.

(10) El caso práctico de autorización comercial que más se asemeja al de una vacuna comestible, fue obtenido en 2008 por la empresa Protalix Biotherapeutics, cuyo objeto es la enzima glucocerebrosidasa recombinante producida a partir de cultivos celulares de zanahorias MG. De este modo, han conseguido superar las objeciones planteadas por la FDA, ya que, si bien la tecnología es la misma, la expresión de la proteína de interés se realiza en cultivos celulares del vegetal, sorteando las barreras regulatorias del cultivo y de

la comercialización de la planta completa o del tubérculo como alimentos propiamente dichos.

ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS

(11) El estudio de vigilancia tecnológica realizado ha permitido detectar la existencia de 15 patentes representativas (desde 1983 a 2009) que se dirigen a la protección de vacunas comestibles que están en fase de investigación clínica principalmente impulsadas por empresas privadas. Muchas de ellas, protegen más aspectos técnicos de los que finalmente se llevan a la práctica mediante los estudios en fase clínica. De todas ellas, destaca la patente US6194560, por tener efectos en España a través de la patente ES 2235176 y por tener como uno de los inventores al padre de las vacunas comestibles, el investigador Charles Arntzen. Esta patente se refiere a una vacuna para el virus de la hepatitis B que se expresa en partes comestibles de las plantas tales como frutos, hojas, tallos, raíces o semillas de tres tipos de tejidos vegetales como tomates, patatas y tabaco.

(12) Consideramos que en el caso de las vacunas comestibles, su aceptación está condicionada por el trinomio (riesgo/beneficio/factor geográfico). Así, para el caso de las vacunas comestibles como alimentos modificados genéticamente, los consumidores de países desarrollados perciben una ausencia de beneficios y una existencia de riesgos potenciales, especialmente si el marco geográfico en el que se va a desarrollar la tecnología está próximo a su entorno. Si por el contrario, el consumidor considerara que las vacunas comestibles pueden ser una alternativa terapéutica que favorece que muchas personas que no tienen acceso a un sistema sanitario y que además se puede hacer uso de las mismas en un entorno geográfico muy alejado, el resultado sería significativamente distinto, encontrando más beneficios que riesgos.

10.2 REFLEXIÓN FINAL

A pesar de que la aceptación social de ciertas prácticas biotecnológicas es variable en función del producto que se obtenga (alimento Vs medicamento), de la percepción de los riesgos y del entorno geográfico en el que se implantan dichas tecnologías, la realidad es que cada vez existen más cultivos OMGs tanto para fines alimentarios como para fines sanitarios. Y bajo el paraguas de la ambigüedad conceptual de lo que simboliza una vacuna comestible, parece oportuno resaltar los beneficios sociales que ofrecen como productos farmacéuticos. Lo que en los años 90 eran simples experimentos científicos, es hoy en día una realidad que ofrece una alternativa principalmente a los países en vías de desarrollo para conseguir de una forma económica y accesible a toda la población una inmunidad a través de las mucosas frente a cada vez más afecciones.

Consideramos que de los distintos desarrollos de la Agrobiotecnología con relación a la salud humana, y en concreto la producción de antígenos en plantas modificadas genéticamente (vacunas comestibles) puede ser uno de los más prometedores, por su importancia tanto económica como sanitaria.

11. BIBLIOGRAFÍA

11.1. DOCUMENTOS CIENTÍFICOS

- Abbas, J., Lichtman, G; Pober, R. (2008). *Inmunología celular y Molecular*. 6ª ed. McGraw-Hill. Interamericana. México.
- Albert, A., Roda, L. (2004). El control de los OMGs en la Comisión Nacional de Bioseguridad. *Sistema; Revista de Ciencias Sociales*. Marzo, 179-180:67-88.
- Alcalde E. (2009). Tesis doctoral: El Análisis de Riesgos de los Organismos Modificados Genéticamente. El maíz Bt176 en España.
- Andersen DC; Krummen L (2002). Recombinant protein expression for therapeutic applications. *Current opinion in biotechnology* 2002;13(2):117-23.
- Arntzen, C.J., H.S. Mason, J.J. Shi, T.A. Haq, M.K. Estes and J.D. Clements. (1994). Production of candidate oral vaccines in edible tissues of transgenic plants. In: *Vaccines, Modern Approaches to New Vaccines Including Prevention of AIDS*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y. pp 339-348.
- Azzoni AR, Kusnadi AR, Miranda EA, Nikolov ZL (2002). Recombinant aprotinin produced in transgenic corn seed: extraction and purification studies. *Biotechnol Bioeng*. Vol. 80, 268-276.
- Bae J.-L.; Lee J.-G.; Kang T.-J.; Jang H.-S.; Jang Y.-S.; Yang M.-S. (2003). Induction of antigen-specific systemic and mucosal immune responses by feeding animal transgenic plants expressing the antigen. *Vaccine*, 21, 4052-4058.
- Bakker H, Bardor M, Molthoff JW, Gomord V, Elbers I, Stevens LH, Jordi W, Lommen A, Faye L, Lerouge P, Bosch D. (2001). Galactose extended glycans of antibodies produced by transgenic plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol. 98(5), 2899–2904.
- Bao N, Lye KW, y Barton MK (2004) microRNA binding sites in Arabidopsis class 111 HD-ZIPmRNAs are required for methylation of the template chromosome. *Dev. Cell* 7 (5): 653-662.
- Bardor M, Faveeuw C, Fitchette AC, Gilbert D, Galas L, Trottein F, Faye L, Lerouge P. (2003). Immunoreactivity in mammals of two typical plant glyco-epitopes, core alpha (1,3)-fucose and core xylose. *Glycobiology*. Vol. 13(6), 427–434.
- Baulcombe D. (2004). RNA silencing in plants. *Nature*. 431,356-363.
- Baur A, Kaufmann F, Rolli H, Weise A, Luethje R, Berg B, Braun M, Baeumer W, Kietzmann M, Reski R and Gorr G. (2005). A fast and flexible PEG-mediated transient expression system in plants for high level expression of secreted recombinant proteins. *Journal of Biotechnology*. Vol. 119, pag.332-342
- Beck, G.; Habicht GS. (1996). Immunity and the Invertebrates. *Scientific American*. pp. 60–66.

-
- Biemelt S, Sonnewald U, Gaimbacher P, Willmitzer L, Muller M. (2003). Production of human papillomavirus type 16 viral-like particles in transgenic plants. *J Virol.* Vol. 77, 9211-9220.
- Breathnach, C.S. (1984). Biographical sketches No. 44. Metchnikoff. *Irish medical journal* 77 (9): 303.
- Brock, Thomas D. (1999). *Robert Koch: A Life in Medicine and Bacteriology.* Washington, D.C.: ASM Press. ISBN 9781555811433. OCLC 39951653.
- Brookes G y Barfoot P (2009). *GM crops: global socio-economic and environmental impacts 1996-2007.* PG Economics Ltd, UK.
- Butaye KM, Cammue BP y de Bolle MF (2005) Approaches to minimize variation of transgene expression in plants. *Mol.Breeding* 16 79-91.
- Cámara, M. (2006a) Calidad Nutricional y Salud. En. *Mejora genética de la calidad en plantas.* Pp: 45-65. SECH - Sociedad Española de Genética Valencia, España.
- Cámara, M. (2006b). Capítulo 8. Percepción social sobre los organismos modificados genéticamente. *Organismos Modificados Genéticamente.* 157-153. Editorial Ephemera. Alcalá de Henares, Madrid.
- Cámara, M., Monsalve, I. (2004). An overview on public attitudes to agricultural biotechnology over the last five years (1999-2003). In 8th ICABR International Conference on Agricultural Biotechnology (Ravello (Italia)).
- Cámara, M; Cebadera, E. (2009). Antigen production in plants as edible vaccines: a great promise. *New Biotechnology.* Volume 25, Supplement 1, S289, September.
- Cebadera E., Cámara M. (2007). Plants as biofactories: Edible vaccines production. *Journal of biotechnology* 131 (2): S43-S44 Suppl. S SEP.
- Cebadera E., Cámara M. (2005a). Review of Agrobiotechnology application for edible vaccines development. *Journal of biotechnology* 118: S161-S161 Suppl. 1 AUG.
- Cebadera E., Cámara M. (2005b). Obtención de compuestos de uso terapéutico en plantas modificadas genéticamente: *Nutrición Hospitalaria.* Vol. XX. N.º 6 • Noviembre-Diciembre.
- Chen X (2005). MicroRNA biogenesis and functions in plants. *FEBS Lett.* 579 (26): 5923-5.
- Chong DK, Langridge WH., (2000). Expression of full-length bioactive antimicrobial human lactoferrin in potato plants. *Transgenic Res.* Vol. 9(1), 71-78.
- Clendennen, S.K., R. Lopez-Gomez, M. Gomez-Lim, C.J. Arntzen, G.D. May. (1998). The abundant 31-kilodalton banana pulp protein is homologous to class-III acidic chitinases. *Phytochemistry*, 47:613-619.

- Conrad U, Fiedler U. (1998). Compartment-specific accumulation of recombinant immunoglobulins in plant cells: an essential tool for antibody production and immunomodulation of physiological functions and pathogen activity. *Plant Mol. Biol.* 38: 101-109.
- Cory L. Nykiforuk, Joseph G. Boothe, Elizabeth W. Murray, Richard G. Keon, H. Joseph Goren, Nancy A. Markley and Maurice M. Moloney (2005). Transgenic expression and recovery of biologically active recombinant human insulin from *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Biotechnology Journal*. Vol. 4 Issue 1, 77 – 85.
- Costa Vilamajó, J. (2006). Garantías de seguridad con las variedades transgénicas. *Agricultura: Revista agropecuaria*, nº 75, Nº 884, 2006, pags. 310-311.
- Costa Vilamajó, J. (2009). Protección y nuevas tecnologías. Jornadas sobre la protección de las obtenciones vegetales. Madrid. Consejo Superior Agrario y Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, pags. 167-176.
- Cramer, C.L., Boothe, J.G., Oishi, K.K. (1999). Transgenic plants for therapeutic proteins: linking upstream and downstream strategies. *Curr Top Microbiol Immunol*, 240, 95-118.
- Cubero JI. (2008). Registro, protección y patentes. *Actas de Horticultura SECH*. 51, 33-41.
- Cubero, J.I. (1999). *Introducción a la Mejora Genética Vegetal*. Mundi Prensa. Madrid.
- Cubero, J.I. (2002). Recursos fitogenéticos y mejora vegetal. En *La diversidad Biológica en España*, 26: 359-372.
- Cubero, J.I. (2003). Mejora genética vegetal e ingeniería genética de plantas. En *Plantas Transgénicas: de la Ciencia al Derecho*, pp 1-26.
- Cuppen E, Hisschemöller M, Midden C. (2009). Bias in the exchange of arguments: the case of scientists' evaluation of lay viewpoints on GM food. *Public understanding of science*. Vol. 18, 591-606.
- Daniell H, Khan MS, Allison L. (2002). Milestones in chloroplast genetic engineering: an environmentally friendly era in biotechnology. *Trends Plant Sci*. Vol. 7, 84-91.
- Daniell H, Streatfield SJ, Wycoff K. (2001). Medical molecular Pharming: production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plants. *Trends Plant Sci*. Vol. 6, 219-226.
- Debre, P.; Forster, E.: "Louis Pasteur". Johns Hopkins University Press, October 2000; ISBN 0-8018-6529-8.
- DeWilde C, Peeters K, Jacobs A, Peck I, Depicker A. (2002). Expression of antibodies and Fab fragments in transgenic potato plants: a case study for bulk production in crop plants. *Mol Breed*. Vol. 9, 271-282.

-
- Dykxhoorn DM y Lieberman J (2005) The silent revolution RNA interference as basic biology research tool, and therapeutic. *Annu.Rev.Med.* 56 401-423.
- Fernández de Gorostiza, M. (2000). “Inscripción de variedades transgénicas en el Registro de Variedades Comerciales de Plantas”. 11º Symposium La biotecnología y la sanidad de los cultivos. PHYTOMA España. 120, Junio/Julio.
- Fernández de Gorostiza, M. (2002). “Las variedades modificadas genéticamente y su inscripción en los registros de variedades vegetales”. Seminario sobre nuevos alimentos. Fundación Duques de Soria. 22-26 Julio, Soria.
- Fernández San Millán, Mingo-Castel, A.; Miller, M.; Daniell, H. (2003). A chloroplast transgenic approach to hyper-express and purify human serum albumin, a protein highly susceptible to proteolytic degradation. *Plant Biotechnol.* Vol. 1, 77-79.
- Fischer, F. (2000) *Citizens, Experts, and the Environment: The Politics of Local Knowledge.* Duke University Press: Durham-London.
- Fischer R., Emans N. (2000). Molecular farming of pharmaceutical proteins. *Transgenic Res.* Vol. 9, 279-299.
- Fischer R.; Stoger, E.; Schillberg, S.; Christou, P.; Twyman, R.M., (2004). Plant-based production of biopharmaceuticals. *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 152-158.
- Fooks, A. R. (2000). Developments of oral vaccines for human use. *Curr. Opin. In molecular Therapeutics.* Vol. 2, Issue 1, 80-86.
- Ganapathi, T.R., Higgs, N.S., Balint-Kurti, P.J., Arntzen, C.J., May, G.D., Van Eck, J.M. (2001). Agrobacterium-mediated transformation of embryogenic cell suspensions of the banana cultivar Rasthali (AAB). *Plant Cell Reports.* 20:157-162.
- García Olmedo, F. (2003). Diez reflexiones sobre biotecnología agraria. In *Jornadas temáticas: Formación e innovación agrarias.* Madrid: Ministerio de Agricultura.
- Gaskell, G., Allum, N., Bauer, M., Durant, J., Allansdottir, A., Bonfadelli, H., *et al.*, (2000). Biotechnology and the European public. *Nature Biotechnology*, 18(9), 935-938.
- Gaskell, G., and Bauer, M. (Eds). (2001). *Biotechnology 1996-2000: The years of controversy.* London: Science Museum Press.
- Gaskell, G.; Allum, N.; Wagner, W.; Kronberger, N.; Torgersen, H.; Hampel, J. y Bardes, J. (2004). GM Foods and the Misperception of Risk Perception. *Risk Analysis*, 24, 1, 185-193.
- Gaskell, G., Allansdottir, A., Allum, N., Corchero, C., Fischler, C., Hampel, J., Jackson, J., Kronberger, N., Mejlgard, N., Revuelta, G., Schreiner, C., Stares, S., Torgersen, H., y Wagner, W. (2006). *Europeans and Biotechnology in 2005: Patterns and Trends* (European Commission’s Directorate-General for Research).

- Giddings G, Allison G, Brooks D, Carter A. (2000). Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals. Vol. 18, Issue 11, 1151-1155.
- Giddings, G. (2001). Transgenic plants as a protein factories. *Current Opinión in Biotechnology*, 12, 450-454.
- Goldsby, R. A., Kindt, T. J., Osborne, B. A. y Kuby, J. (2004). *Inmunología*. 5ª ed. McGraw-Hill . Interamericana. México.
- Goldstein D.A. y Thomas J.A., (2004). Biopharmaceuticals derived from genetically modified plants. *Q J Med* 2004; 97:705–716
- Gómez Lim. M.A. (2001). “Producción de vacunas y compuestos farmacéuticos en plantas transgénicas”. *Avance y Perspectiva*, vol. 20.
- Gómez Lim. M.A. (2001). “Producción de vacunas y compuestos farmacéuticos en plantas transgénicas”. *Avance y Perspectiva*, vol. 20.
- Gutiérrez-Correa, M., 2005. *Biotecnología Agroindustrial*. Agroindustrias. Universidad Nacional La Molina, Perú.
- Haq TA, Mason HS, Clements JD, Arntzen CJ. (1995). Oral immunization with a recombinant bacterial antigen produced in transgenic plants. *Science* 268:714-716.
- Heggeness, MH., Ash, JF.; (1977). Use of the Avidin-biotin complex for the localization of actin and myosin with fluorescence microscopy. *J. J. Cell. Cell. Biol. Biol.* 73, 783-788.
- Heifetz, P. B.; Tuttle, A.M. (2001). Protein expression in plastids. *Current Opinion in Plant Biology*, 4, 157-161.
- Hiatt A, Cafferkey R, Bowdish K. (1989). Production of antibodies in transgenic plants. *Nature*; Vol. 342(6245), 76–78.
- Hiatt A, MA JK. (1993). Characterization and applications of antibodies produced in plants. *Int Rev Immunol*; Vol. 10(2–3), 139–152.
- Hood EE, Witcher DR, Maddock S, Meyer T, Baszczyński C, Bailey M, Flynn P, Register J, Marshall L, Bond D. (1997). Commercial production of avidin from transgenic maize: characterization of transformant, production, processing, extraction and purification. *Mol Breed*. Vol. 3, 291-306.
- Hood EE, Woodard SL, Horn ME. (2002). Monoclonal antibody manufacturing in transgenic plants — myths and realities. *Curr Opin Biotechnol*. Vol.13, 630-635.
- Horn, M. E.; Woodard, S.L.; Howard, J.A. (2004). Plant molecular farming: systems and products. *Plant Cell. Rep.*, 22, 711-720.
- Howard, J. A. (2003). Plant-based vaccines. *International Journal for Parasitology* 33, 479-493.

-
- Jakob CA, Burda P, Roth J, Aebi M. (1998). Degradation of misfolded endoplasmic reticulum glycoproteins in *Saccharomyces cerevisiae* is determined by a specific oligosaccharide structure. *J Cell Biol.* Vol. 142(5), 1223–1233.
- Janeway C, Travers P, Walport M, Shlomchik M (2001). *Immunobiology*; Fifth Edition. New York and London: Garland Science.
- Jiang XL, He ZM, Peng ZQ, Qi Y, Chen Q, Yu SY. (2007). Cholera toxin B protein in transgenic tomato fruit induces systemic immune response in mice. *Transgenic Research.* Vol. 16. 169-175.
- Kamenarova K., Gechev K, Stoyanova M, Muhovsky Y, Azai H, Atanasov A. (2007). Production of Recombinant Human Lactoferrin in Transgenic Barley, *Biotechnol & Biotechnol. Eq.* 21/1 pp. 18-27.
- Kapusta, J., Modelska, A., Figlerowicz, M., Pniewski, T., Letellier, M., Lisowa, O., Yusibov, V., Koprowski, H., Plucienniczak, A. and Legocki, A. B. (1999). A plant-derived edible vaccine against hepatitis B virus. *FASEB J.* Vol.13:1796-1799.
- Karasev AV, Foulke S, Wellens C, Rich A, Shon KJ, Zwierzynski I, Hone D, Koprowski H and Reitz M (2005). Plant based HIV-1 vaccine candidate: Tat protein produced in spinach. *Vaccines. Plant-derived Vaccines and Antibodies: Potential and Limitations.* Volume 23, Issue 15, 7 March 2005, Pages 1875-1880.
- Karnovsky, M L (1981). "Metchnikoff in Messina: a century of studies on phagocytosis". *N. Engl. J. Med. (UNITED STATES)* 304 (19): 1178–80. ISSN 0028-4793. PMID 7012622.
- Katerere, Jennifer M. (2001). The Precautionary Principle: Implications for Development and Poverty Alleviation in Southern Africa, *UICN-ELP Newsletter*, vol. 1.
- Kathuria S, Sriraman R, Nath R, Sack M, Pal R, Artsaenko O, Talwar GP, Fischer R, Finnern R. (2002). Efficacy of plant-produced recombinant antibodies against HCG. *Hum Reprod.* Vol. 17, 2054-2061.
- Kaiser J.(2008). Is the Drought Over for Pharming?. *Science.* Vol. 320, no. 5875, pp. 473 – 475.
- Keller, MA. and Stiehm ER. (2000). "Passive Immunity in Prevention and Treatment of Infectious Diseases". *Clinical Microbiology Reviews* 13 (4): 602-614.
- Khandelwal A, Lakshmi Sita, G. and Shaila, M.S. (2003). Expression of hemagglutinin protein of rinderpest virus in transgenic tobacco and immunogenicity of plant-derived protein in a mouse model. *Virology*, 308, 207-215.
- Kim Tg, Mi-Young K, Bang-Geul K, Tae-Jin K, Young-Sook K, Jang Yong-Suk, Arntzen Cj; Yang Moon-Sik (2007). Synthesis and assembly of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin B subunit in transgenic lettuce (*Lactuca sativa*). *Protein expression and purification* vol. 51, no1, pp. 22-27.

- Kim, T-G et al (2004). HIV-1 gp120 V3 cholera toxin B subunit fusion gene expression in transgenic potato. *Protein Expression and Purification*, 37, 196-202.
- Kong Q, Richter L, Yang YF, Arntzen CJ, Mason HS, Thanavala Y. (2001). Oral immunization with hepatitis B surface antigen expressed in transgenic plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol. 98(20), 11,539–11,544.
- Kostrzak A, Cervantes Gonzalez M, Guetard D, Nagaraju DB, Wain-Hobson S, Tepfer D, Pniewski T, Sala M. (2009). Oral administration of low doses of plant-based HBsAg induced antigen-specific IgAs and IgGs in mice, without increasing levels of regulatory T cells. *Vaccine*. Jul 30; 27(35):4798-807.
- Kusnadi, A. R., Howard J., Nikolov Z. L. (1997). Production of recombinant proteins in transgenic plants: Practical considerations. *Biotechnol. Bioeng.* 56: 473.
- Kwon TH, Kim YS, Lee JH, Yang MS. (2003). Production and secretion of biologically active human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in transgenic tomato suspension cultures. *Biotechnol Lett*. Vol. 25, 1571-1574.
- Kyle, RA. (1999). Shibasaburo Kitasato-Japanese bacteriologist. *Mayo Clinic Proceedings*.
- Lal P, Ramachandran VG, Goyal R, Sharma R. (2007). Edible vaccines: Current status and future. *Indian J Med Microbiol*; 25:93-102.
- Lamphear BJ, Streatfield SJ, Jilka JM, Brooks CA, Barker DK, Turner DD, Delaney DE, Garcia M, Wiggins B, Woodard SL, Hood EE, Tizard IR, Lawhorn B, Howard JA. (2002). Delivery of subunit vaccines in maize seed. *J Control Release*. Vol. 85, 169-180.
- Landridge, W. (2000). "Edible Vaccines". *Scientific American online*. 283-3: 66-71
- Larrick JW, Thomas DW, (2001). Producing proteins in transgenic plants and animals. *Current Opinion Biotechnology*. Vol.12, 411-418.
- Lauterslager Tosca G, Hilgers LA. (2002). Efficacy of oral administration and oral intake of edible vaccines. *Immunology Letters*. Vol. 84, 185-190.
- Le Hir H, Nott A, Moore MJ (2003) How introns influence and enhance eukaryotic gene expression. *Trends Biochem.Sci.*28 (17): 4663:4670.
- Leelavathi S, Reddy VS, (2003). Chloroplast expression of His-tagged GUS fusions: a general strategy to overproduce and purify foreign proteins using transplastomic plants as biorreactors. *Mol Breed*. Vol. 11, 49-58.
- Lencina F (2009). Análisis de la dinámica de producción del anticuerpo 14D9 expresado en suspensiones celulares de *Nicotiana tabacum*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de General San Martín (UNSAM). Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein –Fundación Pablo Cassará.

-
- Lerouge P, Bardor M, Pagny S, Gomord V, Faye L. (2000). N-glycosylation of recombinant pharmaceutical glycoproteins produced in transgenic plants: towards an humanisation of plant N-glycans. *Curr Pharm Biotechnol*. Vol. 1(4), 347–354.
- Lessard, P. A.; Kulaveerasingam, H.; York, G. M.; Strong, A.; Sinskey, A. J. (2002). Manipulating gene expression for the metabolic engineering of plants. *Metabolic Engineering*, 4, 67-79.
- Li S, De-gang Z, Yong-jun W., Yi L. (2008). Transient expression of chicken alpha interferon gene in lettuce. *Journal of Zhejiang University - Science B*. Vol. 9, N. 5, 351-355.
- Lindquister, Gary J. (2006) Introduction to the History of disease. Disease and Immunity, Rhodes College.
- Loza-Rubio, E, Gómez Lim MA (2006). Producción de vacunas y otros compuestos biológicos en plantas transgénicas: *Veterinaria México*, vol. 37 no. 004.
- Luján, J.L., Moreno, L. (1993). Biotecnología y Sociedad: Conflicto, desarrollo y regulación. Instituto de Estudios Sociales Avanzados (CSIC). Documento de trabajo 93-05.
- Ma JK, Hikmat BY, Wycoff K, Vine ND, Chargelegue D, Yu L, Hein MB, Lehner T. (1998). Characterization of a recombinant plant monoclonal secretory antibody and preventive immunotherapy in humans. *Nat Med*. Vol. 4(5), 601–606.
- Ma, J. K.; Drake, P.M.; Christou, P. (2003). The Production of Recombinant Pharmaceutical Proteins in Plants. *Nature*, 4, 794-805.
- Ma, J. K.; Drake, P.M.; Christou, P. (2003). The Production of Recombinant Pharmaceutical Proteins in Plants. *Nature*, 4, 794-805.
- Maliga P., (2002). Engineering the plastid genome of higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*. Vol. 5, 164-172.
- Markley, D. (2002). It's not NIMBY anymore--it's BANANA. *Broadcast Engineering*. Vol. 44, pp. 52-54.
- Mason HS, Ball JM, Shi JJ, Jiang X, Estes MK, Arntzen CJ. (1996). Expression of Norwalk virus capsid protein in transgenic tobacco and potato and its oral immunogenicity in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol. 93(11), 5335–5340.
- Mason HS, Ball JM, Shi JJ, Jiang X, Estes MK, Arntzen CJ. (1996). Expression of Norwalk virus capsid protein in transgenic tobacco and potato and its oral immunogenicity in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol. 93(11), 5335–5340.
- Mason HS, Chikwamba R, Santi L, Mahoney RT, Arntzen CJ. (2004). Transgenic Plants For Mucosal Vaccines. In: J. McGhee, *Mucosal Immunology*; Academic Press.

- Mason HS, Warzecha H, Mor T, Arntzen CJ. (2002). Edible plant vaccines: applications for prophylactic and therapeutic molecular medicine. *Trends Mol Med* 8, 324-329.
- Matzke MA., Matzke AJ (1998) Epigenetic silencing of plant transgenes as a consequence of diverse cellular defence responses. *Cell Mol.Life Sci.* 54 (1): 94-103.
- Matzke MA, Aufsatz W, Kanno T, Mette MF, Y Matzke AJ (2002) Homology-dependent gene silencing and host defense in plants. *Adv.Genet.* 46 235-275.
- May, G.D., R. Afza, H.S. Mason, A. Wiecko, F.J. Novak and C.J. Arntzen. (1995). Generation of transgenic banana (*Musa acuminata*) plants via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Bio/Technology* 13:486-492.
- McGarvey P.B., Hammond J., Dienelt M.M., Hooper D.C., Fu Z.F., Dietzschold B., Kiprowski H., Michaels F.H. (1995), "Expression of the Rabies Virus Glycoprotein in Transgenic Tomatoes." *Bio/Technology* Vol. 13, No. 13, pp. 1484-1487.
- Miele L, (1997). Plants as bioreactors for biopharmaceuticals: regulatory considerations. *Trends Biotechnology.* Vol. 15, 45-50.
- Mishra, N, Gupta, PN, Khatri K, Goyal, AK, Vyas SP (2008). Edible vaccines: A new approach to oral immunization. *Indian Journal of Biotechnology (IJBT).* Vol. 7, 0972-5849.
- Molina, A., Hervás-Stubbs, S.; Daniell, H.; Mingo-Castel, AM; Veramendi, J. (2004). High-yield expresión of a viral peptide animal vaccine in transgenic tobacco chloroplasts. *Plant Biotechnology Journal*, 2, 141-153.
- Monsalve, I. (2004). Tesis doctoral: Percepción de la biotecnología por los estudiantes de la Universidad Complutense de Madrid.
- Monsalve, I., Cámara, M., Cuesta, P. (2004). Percepción de la biotecnología por los médicos de familia. *Quark* 33, 51-56.
- Mor, T.S., Mason, H.S., Kirk, D.J., Arntzen, C.J., Guy A. Cardineau, G.A. (2004). Plants as a production and delivery vehicle for orally delivered subunit vaccines Chapter 26 in: M. Levine; *Vaccines*.
- Moravec T, Schmidt MA, Herman EM, Woodford-Thomas T (2007). Production of *Escherichia Coli* heat labile toxin (LT) B subunit in soybean seed and analysis of its immunogenicity as an oral vaccine. *Vaccine.* Vol. 25, 1647-1657.
- Morris, Robert D (2007). *The blue death: disease, disaster and the water we drink.* New York: Harper Collins.
- Muñoz, E. (2001). *Biotecnología y sociedad. Encuentros y desencuentros.* Cambridge University Press. Madrid.

-
- Muñoz, E. (2003a). Biotecnología, sociedad y opinión pública. Temas para el debate. 105/106. Dossier N° 8.
- Muñoz, E. (2003b). "Problems in the analysis of the public's perception on biotechnology: Europe and its contradictions". Grupo de Ciencia, Tecnología y Sociedad (CSIC). Working Paper 03-03. www.iesam.csic.es/doctrab.htm.
- Muñoz, E. (2004). "Opinión pública y biotecnología: un «puzzle» con muchas y variadas piezas". *Sistema; Revista de Ciencias Sociales*. Marzo, 179-180:3-13.
- Murray C, Sutherland PW, Phung MM, Lester MT, Marshall RK, Christeller JT. (2002). Expression of biotin-binding protein, avidin and streptavidin, in plant tissues using plant vacuolar targeting sequences. *Transgenic Res*. Vol. 11, 199-214.
- Nandi, S.; Suzuki, YA; Huang, J.; Yalda, D.; Pham, P.; Wu, L.; Bartley, G.; Huang, N.; Lönnerdal, B. (2002). Expression of human lactoferrina in transgenic rice grains for the application in infant formula. *Plant Science*, 163, 713-722.
- Norris DA, Puri N, Sinko PJ (1998) The effect of physical barriers and properties on the oral absorption of particulates. *Adv Drug Deliv Rev*;34:135-54.
- Nuttall J, Vine N, Hadlington JL, Drake P, Frigerio L, Ma JK. (2002). ER-resident chaperone interactions with recombinant antibodies in transgenic plants. *Eur J Biochem*. Vol. 269, 6042-6051.
- Orent, W (2004). *Plague: The Mysterious Past and Terrifying Future of the World's Most Dangerous Disease*. Free Press.
- Oszvald M, Kang TJ, Tomoskozi S, Jenes B, Kim TG, Cha YS, Tamas L, Yang MS (2008). Expression of cholera toxin B subunit in transgenic rice endosperm. *Molecular Biotechnology*, Vol. 40, 261-268.
- Oszvald M, Kang TJ, Tomoskozi S, Jenes B, Kim TG, Cha YS, Tamas L, Yang MS (2007). Expression of a synthetic neutralizing epitope of porcine epidemic diarrhea virus fused with synthetic b subunit of Escherichia Coli heat labile enterotoxin in rice endosperm. *Molecular Biotechnology*, Vol. 35, 215-223.
- Padidam M, (2003). Chemically regulated gene expression in plants. *Curr Opin Plant Biol* 2003. Vol. 6, 169-177.
- Paoletta, C., Flamm, E., Yan, W., Meek, S., Renckens, S., Fellous, M., y Kuiper, H. (2008). GMO risk assessment around the world: Some examples. *Trends in Food Science & Technology* 19, 70-78.
- Peterson, R.K.D., Arntzen, C.J. (2004). On risk and plant-based biopharmaceuticals. *Trends in Biotechnology*. 22: 2: 64-66.
- Porter, R (2004). *Blood and Guts: A Short History of Medicine*. W. W. Norton & Company.

- Qian BJ, Shen HF, Liang WQ, Guo XM, Zhang, Wang Y, Li GD, Wu AB, Cao KM, Zhang D (2008). Immunogenicity of recombinant hepatitis b virus surface antigen fused with pres1 epitopes expressed in rice seeds. *Transgenic Research*, Vol.17, 621-631.
- Rachmawati D., Mori T, Hosaka T, Takaiwa F, Inoue E., Anzai H. (2005). Production and Characterization of Recombinant Human Lactoferrin in Transgenic Javanica Rice. *Breed. Sci.* Vol. 55: 213-222.
- Ramirez N, Rodriguez M, Ayala M, Cremata J, Perez M, Martinez A, Linares M, Hevia Y, Paez R, Valdes R, Gavilondo JV, Selman-Housein G. (2003). Expression and characterization of an anti-hepatitis B surface antigen glycosylated mouse antibody in transgenic tobacco plants, and its use in the immunopurification of its target antigen. *Biotechnol Appl Biochem.* Vol. 38, 223-230.
- Richter LJ, Thanavala Y, Arntzen CJ, Mason HS. (2000). Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nat Biotechnol.* Vol. 18(11), 1167-1171.
- Rigano M., Walmsley AM (2005). Expression systems and developments in plant-made vaccines. *Immunology and Cell Biology* Vol. 83, 271-277.
- Rodríguez, M.A., Blanca, R.M., López, M.C. (2001). “Repertorio legislativo de biotecnología agroalimentaria: Internacional, comunitaria y nacional (Segunda parte). *Alimentaria.* Julio/Agosto: 145-164.
- Rodríguez-Villanueva, J. (2000). El impacto de la Genética en el desarrollo de nuevos fármacos. *Informática y Salud* N° 22.
- Roitt, I.M., Delves, P.J. (2003). *Inmunología. Fundamentos.* 10ª ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Rosales-Mendoza S, Alpuche-Solís A, Soria-Guerra R, Moreno-Fierros L, Martínez-González L, Herrera-Díaz A, Schuyler S. Korban (2008). Expression of an *Escherichia coli* antigenic fusion protein comprising the heat labile toxin B subunit and the heat stable toxin and its assembly as a functional oligomer in transplastomic tobacco plants. *Plant J* 57: 45-54.
- Rubio Somoza, I (2004). Vacunas comestibles. Universidad de Santiago de Compostela: http://www.usc.es/estaticos/xornal-historico/opinion_ampa9f6.html?p=5221.
- Ruf S, Hermann M, Berger IJ, Carrer H, Bock R. (2001). Stable genetic transformation of tomato plastids and expression of a foreign protein in fruit. *Nat Biotechnol.* Vol. 19, 870-875.
- Sala F, Rigano M, Barbante A, Basso B, Walmsley AM, Castiglione S. (2003). Vaccine antigen production in transgenic plants: strategies, gene constructs and perspectives. *Vaccine.* Vol. 21, 308-808.

-
- Salaices Sánchez, L. (2009). El sistema de protección de los derechos de obtentor en España. Jornadas sobre la protección de las obtenciones vegetales. Madrid. Consejo Superior Agrario y Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, pags. 53-69.
- Saldaña S, Guadarrama FE, Flores T, Arias N, López S, Arias C, Ruiz-Medrano R, Mason H, Mor T, Richter L, Arntzen CJ, Lim M. (2006). Production of rotavirus-like particles in tomato (*Lycopersicon esculatum* L.) fruit by expression of capsid proteins VP2 and VP6 and immunological studies. *Viral Immunology*;19:42-53.
- Samyn-Petit B, Gruber V, Flahaut C, Wajda-Dubos JP, Farrer S, Pons A, Desmaizieres G, Slomianny MC, Theisen M, Delannoy P. (2001). N-glycosylation potential of maize: the human lactoferrin used as a model. *Glycocon J*. Vol. 18(7), 519–527.
- Samyn-Petit B, Wajda Dubos JP, Chirat F, Coddeville B, Demaizieres G, Farrer S, Slomianny MC, Theisen M, Delannoy P. (2003). Comparative analysis of the site-specific N-glycosylation of human lactoferrin produced in maize and tobacco plants. *Eur J Biochem*. 270(15), 3235–3242.
- Sánchez Gil, O. (1997). La ley española de protección de obtenciones vegetales, a la luz de la última reforma del Convenio UPOV de 19 de marzo de 1991. *Actas de Derecho Industrial y Derecho de Autor (ADI)*; pp. 219- 260.
- Sánchez Gil, O. (2000). “El nuevo régimen jurídico de la protección de las obtenciones vegetales en España”, *Comunicaciones IDEI*, nº 20.
- Sánchez Gil, O. (2008). La protección de las obtenciones vegetales: el privilegio del agricultor. Madrid : Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, (Serie estudios ; 167).
- Sánchez Gil, O. (2009). El privilegio del agricultor y del obtentor. Jornadas sobre la protección de las obtenciones vegetales. Madrid. Consejo Superior Agrario y Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, pags. 93-101.
- Schillberg S, Fischer R, Emans N. (2003). Molecular farming of recombinant antibodies in plants. *Cell Mol Life Sci*. Vol. 60(3), 433–445.
- Schmalstieg, Fc; Goldman AS (May. 2008). "Ilya Ilich Metchnikoff (1845-1915) and Paul Ehrlich (1854-1915): the centennial of the 1908 Nobel Prize in Physiology or Medicine". *Journal of Medical Biography (England)* 16 (2): 96–103.
- Shin YJ, Hong SY, Kwon TH, Jang YS, Yang MS. (2003). High level of expression of recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor in transgenic rice cell suspension culture. *Biotechnol Bioeng*. Vol. 82, 778-783.
- Silverstein, AM. (1989). *History of Immunology (Hardcover)* Academic Press.

- Smith ML, Mason HS, Shuler ML. (2002). Hepatitis B surface antigen (HBsAg) expression in plant cell culture: kinetics of antigen accumulation in batch culture and its intracellular form. *Biotechnol Bioeng.* Vol. 80(7), 812–822.
- Spök A. (2007). Molecular farming on the rise – GMO regulators still walking a tightrope. *Trends in Biotechnology.* Vol.25, 74-82.
- Srinivas L, Kumar GBS, Ganapathi TR, Revathi CJ, Bapat VA (2008). Transient and stable expression of hepatitis b surface antigen in tomato (*lycopersicon esculentum* l.). *Plant Biotechnology Reports.* Volume 2. Issue 1. Pages: 1-6.
- Staub JM, Garcia B, Graves J, Hajdukiewicz PT, Hunter P, Nehra N, Paradkar V, Schlittler M, Carroll JA, Spatola L, Ward D, Ye G, Russell DA. (2000). High-yield production of human therapeutic protein in tobacco chloroplast. *Nature Biotechnology*, 18, 333-338.
- Stefanova G., Vlahova M., Atanassov A. (2008) Production of Human Lactoferrin from Transgenic Plants. *Biologia Plantarum* 52(3): 423-428.
- Stein KE, Webber KO, (2001). The regulation of biologic products derived from bioengineered plants. *Curr Opin Biotechnol.* Vol.12, 308-311.
- Stephan Hellwig, S., Sack, M., Spiegel, H., Drossard, J., and Fischer, R. (2003). Using Plants as a Production System for N-Glycosylated Proteins of Therapeutic Relevance. *American Biotechnology Laboratory.* 50-53.
- Stöger E., Sack, M., Fischer, R. & Christou, P (2002). Plantibodies: applications, advantages and bottlenecks. *Curr Opin Biotechnol.* Vol. 13(2), 161–166.
- Stöger, E. (2002). Practical considerations for pharmaceutical antibody production in different crop systems. *Mol Breed.* Vol. 9, 149-158.
- Streatfield, S.J. Howard, J.A. (2003). Plant-based vaccines. *International Journal for Parasitology*, 33, 479-493.
- Sunil Kumar GB, Ganapathi TR, Bapat VA (2008). Production of Hepatitis B Surface Antigen in Recombinant Plant Systems: An Update. *Biotechnology Progress.* Vol. 23. 532 – 539.
- Sunil Kumar GB, Ganapathi TR, Revathi CG, Srinivas L, Bapat VA (2005). Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic banana plants. *Planta*, Vol. 222, Number 3.
- Sussman, H.E. (2003) Spinach makes a safer anthrax vaccine. *Drug Discov. Today*, 8, 428–430.
- Tacket CO (2005). Plant-derived vaccines against diarrheal diseases. *Vaccine.* Vol.: 23, 1866-1869.

-
- Tacket CO, Mason HS, Losonsky G, Estes MK, Levine MM, Arntzen CJ. (2000). Human immune responses to a novel Norwalk virus vaccine delivered in transgenic potatoes. *J Infect Dis.* Vol. 182(1), 302–305.
- Thanavala Y. (2001). Oral immunization with hepatitis B surface antigen expressed in transgenic plants. *Proc Natl Acad Sci USA.* Vol. 98(20), 539–544.
- Thanavala Y., Y.-F. Yang, P. Lyons, H.S. Mason and C.J. Arntzen (1995). Immunogenicity of transgenic plant-derived hepatitis B surface antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:3358-3361.
- Thanavala Y. y Lugade A. (2010). Oral transgenic plant-based vaccine for hepatitis B. *Immunol Res.* 46:4–11.
- Tiner, J.H. (1990) "Louis Pasteur: Founder of Modern Medicine". Mott Media.
- Todd, I., Spickett, G. (2005) *Immunology.* 5ª edición. Blackwell. Massachusetts.
- Tregoning, J. Maliga, P, Dougan, G, Nixon, P.J. (2004). New advances in the production of edible plant vaccines: Chloroplast expression of a tetanus vaccine antigen, TetC. *Phytochemistry*, 65, 989-994.
- Tuboly T, Yu W, Bailey A, Degrandis S, Du S, Erickson L, Nagy E. (2000). Immunogenicity of porcine transmissible gastroenteritis virus spike protein expressed in plants. *Vaccine* 18: 2023-2028.
- Twyman, R. M., Stoger; E., Schillberg, S., Christou, P., Fischer; R. (2003). Molecular farming in plants: host systems and expression technology. *Trends in Biotechno/ogy*, 21, 570-578.
- Ulrich Commandeur, R.M. Twyman and R. Fischer (2003). The biosafety of molecular farming in plants. *AgBiotechnet.* Vol. 5, 1-9.
- Van der Horst D (2007). NIMBY or not? Exploring the relevance of location and the politics of voiced opinions in renewable energy siting controversies. *Energy Policy.* Vol. 35, 2705-2714.
- Wagner B, Hufnagl K, Radauer C, Wagner S, Baier K, Scheiner O, Wiedermann U, Breiteneder H.(2004). Expression of the B subunit of the heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli* in tobacco mosaic virus-infected *Nicotiana benthamiana* plants and its characterization as mucosal immunogen and adjuvant. *J Immunol Methods.* 2;287(1-2):203-15.
- Walmsley, A. M.; Arntzen, C. J. (2003). Plant cell factories and mucosal vaccines. *Curr. Opin. Biotechnol.* Apr; 14(2); 145-150.
- Webster DE, Thomas MC, Strugnell RA, Dry IB, Wesselingh SL (2002).Appetising solutions: an edible vaccine for measles. *Med. J. Aust.*176: 434-437.

- Wigdorovitz A, Carrillo C, Dus Santos MJ., Trono K., Peralta A., Gómez C., Rios R., Franzone P., Sadir A., Escribano J., Borca M. (1999). "Induction of a protective antibody response to foot and mouth disease virus in mice orally or parenterally immunized with alfalfa transgenic plants expressing the viral structural protein VP1". *Virology* 255, 347.
- Wu YZ, Li JT, Mou ZR, Fei L, Ni B, Geng M, Jia ZC, Zhou W, Zou LY, Tang Y. (2003). Oral immunization with rotavirus VP7 expressed in transgenic potatoes induced high titers of mucosal neutralizing IgA. *Virology*, 313, 337-342.
- Xie Z, Kasschau KD, y Carrington JC (2003) Negative feedbackregulation of Dicer-Like1 in Arabidopsis by microRNA- guided mRNA degradation. *Curr.Biol.* 13 (9): 784-789.
- Yoshida, K., Shinmyo, A. (2000). Transgene expression systems in plant, a natural bioreactor. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90, 353-362.
- Youm JW, Jeon JH, Kim H, Kim YH, Ko K, Joung H, Kim HS (2008). Transgenic tomatoes expressing human beta-amyloid for use as a vaccine against Alzheimer's disease. *Biotechnology Letters*; 30(10):1839-45.
- Yu J, Langridge W, (2003). Expression of rotavirus capsid protein VP6 in transgenic potato and its oral immunogenicity in mice. *Transgenic Res.* 12, 163-169.
- Yusibov V. Hooper DC, Spitsin SV, Fleysh N. Kean RB, Mikheeva T, Deka D. Karasev A. Cox S. Randall J. Koprowski H (2002). Expression in plants and immunogenicity of plant virus-based experimental rabies vaccine. *Vaccine* 20:3155-3164.
- Zahmanova G, Falzarano D, Naimov S, Kostova M, Boncheva R, Dukiandjiev S, Minkov I, Andonov A. (2008). Oral immunization with truncated hepatitis B virus nucleocapsid expressed in transgenic potatoes. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences.* Vol. 6, 1293-1300.
- Zavaleta N, Figueroa D, Rivera J, Sanchez J, Alfaro S, Lonnerdal B. (2007). Efficacy of rice-based oral rehydration solution containing recombinant human lactoferrin and lysozyme in peruvian children with acute diarrhea. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2007; 44: 258-64.
- Zeitlin L, Olmsted SS, Moench TR, Co MS, Martinell BJ, Paradkar VM, Russell DR, Queen C, Cone RA, Whaley KJ. (1998). A humanized monoclonal antibody produced in transgenic plants for immunoprotection of the vagina against genital herpes. *Nat Biotechnol.* Vol. 16(13), 1361-1364.
- Zhang X, Norene A. Buehner, Anne M. Hutson, Mary K. Estes and Hugh S. Mason (2006). Tomato is a highly effective vehicle for expression and oral immunization with Norwalk virus capsid protein. *Plant Biotechnology Journal.* Vol. 4 Issue 4, Pages 419 - 432.

-
- Zhou J, Cheng L, Zheng X, Wu J, Shang S, Wang J. (2004). Generation of the transgenic potato expressing full-length spike protein of infectious bronchitis virus. *Journal of Biotechnology*, 111, 121-130.
- Zhu Z, Hughes KW, Huang L, Sun B, Liu C and Li Y (1994). Expression of human α -interferon cADN in transgenic rice plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol. 36, N. 2, 197-204. 197-204.

11.2. NORMATIVA:

- Comisión Europea. (1986). Comunicación de la Comisión al Consejo un marco comunitario para la regulación de la biotecnología. COM/86/573 final.
- Comisión Mundial del Medio Ambiente-Naciones Unidas. (1988): Nuestro Futuro Común, Alianza, Madrid (1987).
- Comisión Europea. (2001). Hacia una visión estratégica de las ciencias de la vida y la biotecnología: documento de consulta. COM(2001)454 final.
- Comisión Europea. (2002a). Comunicación de la Comisión al Consejo, al Parlamento Europeo, al Comité económico y social y al Comité de las Regiones Ciencias de la vida y biotecnología – Una estrategia para Europa. COM(2002)27.
- Comisión Europea. (2002b). Versión consolidada del Tratado Constitutivo de la Comunidad Europea. DOCE C 325/132 del 24 de diciembre de 2002.
- Comisión Europea (2007). Comunicación de la Comisión al Consejo, al Parlamento Europeo, al Comité Económico y Social Europeo y al Comité de las Regiones sobre el informe intermedio relativo a la estrategia en el ámbito de las ciencias de la vida y la biotecnología. SEC(2007) 441. COM(2007) 175 final.
- Comisión Europea (2010). “Europeans, Agriculture and the Common Agricultural Policy”. Eurobarometer 72.5. Directorate-General for Research. Directorate-General for Press and Communication, Public Opinion Sector.
- Decisión del Consejo 93/626/CEE, de 25 de octubre de 1993 (DOCE L 309), relativa a la celebración del Convenio sobre la diversidad biológica.
- Decisión 96/281/CE de la Comisión, de 3 de abril de 1996 (DOCE L 107), relativa a la comercialización de semillas de soja (*Glycine max* L.) modificadas genéticamente con una mayor resistencia al herbicida glifosato, de conformidad con la Directiva 90/220/CEE del Consejo
- Decisión 97/98/CE de la Comisión, de 23 de enero de 1997, relativa a la comercialización de maíz (*Zea mays* L.) modificado genéticamente con una alteración de las propiedades insecticidas conferidas por el gen de la endotoxina Bt, combinada con una mayor resistencia al herbicida glufosinato de amonio, con arreglo a la Directiva 90/220/CEE del Consejo.
- Decisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre (DOCE L 258), referente a las notas de orientación para la evaluación del riesgo descrita en el anexo III de la Directiva 90/219/CEE.
- Decisión 2001/204/CE, de 8 de marzo (DOCE L 73, de 15 de marzo), por la que se completa la Directiva 90/219/CEE con respecto a los criterios por los que se

establece la inocuidad de los microorganismos modificados genéticamente para la salud humana y el medio ambiente.

Decisión del Consejo 2002/811/CE (DOCE L 280/27) de 3 de octubre de 2002, por la que se establecen unas notas de orientación complementarias al anexo VII (concerniente al plan de seguimiento) de la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente.

Decisión del Consejo 2002/812/CE (DOCE L 280/37) de 3 de octubre de 2002, por la que se establece, de conformidad con la Directiva 2001/18/CE, el modelo de resumen de la notificación de la puesta en el mercado de organismos modificados genéticamente como producto o componente de productos.

Decisión 2002/813/CE, de 3 de octubre (DOCE L 280, de 18 de octubre), por la que se establece de conformidad con la Directiva 2001/18/CE, el modelo de resumen de la notificación de la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente para fines distintos de su puesta en el mercado.

Decisión de la Comisión 2003/701/CE, de 29 de septiembre de 2003, por la que se establece un modelo para la presentación de los resultados de la liberación intencional en el medio ambiente de plantas superiores modificadas genéticamente con una finalidad distinta de la de su comercialización con arreglo a la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.

Decisión de la Comisión 2004/204/CE, de 23 de febrero de 2004, por la que se establecen las disposiciones pormenorizadas de funcionamiento de los registros para la recogida de la información relativa a las modificaciones genéticas de los OGM, previstos por la Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.

Directiva 79/112/CEE del Consejo, de 18 de diciembre de 1978, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios destinados al consumidor final

Directiva 90/219/CEE del Consejo de 23 de abril de 1990 (DOCE L 117), relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

Directiva 93/5/CEE, de 25 de febrero (DOCE L 52), relativa a la asistencia a la Comisión por parte de los Estados miembros y a su cooperación, en materia de examen científico de las cuestiones relacionadas con productos alimenticios.

Directiva 94/51/CE de la Comisión de 7 de noviembre de 1994 (DOCE L 297), por la que se adapta al progreso técnico la Directiva 90/219/CEE del Consejo sobre la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

Directiva 97/35/CE de la Comisión, de 18 de junio de 1997, por la que se adapta al progreso técnico por segunda vez la Directiva 90/220 (DO L 169, p. 72).

- Directiva 97/4/CE de 27 de enero de 1997 que modifica la Directiva 79/112/CEE sobre aproximación de legislaciones en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios destinados al consumidor final. DOCE L 43 (97).
- Directiva 98/44/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de julio de 1998, relativa a la Protección Jurídica de las Invenciones Biotecnológicas.
- Directiva 98/81/CE, de 26 de octubre de 1997, por la que se modifica la Directiva 90/219/CEE relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente
- Directiva 98/95/CE, de 14 de diciembre (DOCE L 25, de 1 de febrero de 1999), que modifica respecto de la consolidación del mercado interior las variedades de plantas modificadas genéticamente y los recursos fitogenéticos, las Directivas 1966/400/CEE, 1996/401/CEE, 1966/402/CEE, 1966/403/CEE, 1969/208/CEE, 1970/457/CEE y 1970/458/CEE, sobre la comercialización de las semillas de remolacha, de las semillas de plantas forrajeras, de las semillas de cereales, de las patatas de siembra, de las semillas de plantas oleaginosas y textiles, de las semillas de plantas hortícolas y sobre el catálogo común de las variedades de las especies de plantas agrícolas.
- Directiva 2000/13/CE, de 20 de marzo (DOCE L 109), relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios y por la que se deroga la Directiva 79/112/CEE.
- Directiva 2000/29/CE, de 8 de mayo (DOCE L 169), relativa a las medidas de protección contra la introducción en la Comunidad de organismos nocivos para los vegetales o productos vegetales y contra su propagación en el interior de la Comunidad.
- Directiva 2001/101/CE de la Comisión, de 26 de noviembre de 2001 (DOCE L 310), por la que se modifica la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios.
- Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de marzo de 2001, sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente.
- Directiva 2008/27/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 De Marzo de 2008 que modifica la Directiva 2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente, por lo que se refiere a las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión.
- Directiva 2009/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo de 2009, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente.

-
- EPC, 1973. Convenio 5 de Octubre de 1973, sobre concesión de patentes europeas (Versión consolidada tras la entrada en vigor del Acta de revisión de 29 de Noviembre de 2000). Instrumento de adhesión 10 de julio de 1986, (BOE 30-9-1986, núm. 234).
- Ley 12/1975, de 12 de marzo, de protección de las obtenciones vegetales.
- Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes de Invención y Modelos de utilidad.
- Ley 10/2002, de 29 de abril, por la que se modifica la Ley 11/1986, de marzo, de Patentes, para la incorporación al Derecho español de la Directiva Comunitaria 98/44/CE.
- Ley 15/1994, de 3 de junio, que establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente, con el fin de prevenir el riesgo para la salud humana y el medio ambiente.
- Ley 3/2000, de 7 de enero, de régimen jurídico de la protección de las obtenciones vegetales.
- Ley 11/2001 del 5 de julio, por la que se crea la Agencia Española de Seguridad Alimentaria (BOE 06 de julio de 2001).
- Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente.
- Real Decreto 1118/1998, de 5 de junio (BOE de 18 de junio de 1998), por el que se establece el procedimiento de cooperación con la Comisión Europea en materia de examen científico de las cuestiones relacionadas con productos alimenticios.
- Real Decreto 323/2000, de 3 de marzo, por el que se modifican el Reglamento general técnico de control y certificación de semillas y plantas de vivero, los Reglamentos técnicos de control y certificación de semillas de remolacha, plantas forrajeras, cereales, maíz, sorgo, patata de siembra y el Reglamento general del registro de variedades comerciales.
- Real Decreto 1697/2003, de 12 de diciembre (BOE de 27 de diciembre), por el que se crea la Comisión Nacional de Biovigilancia.
- Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003.
- Real Decreto 1261/2005, de 21 de Octubre, por el que se aprueba el Reglamento de protección de obtenciones vegetales.
- Recomendación de la Comisión 97/618/CE de 29 de julio de 1997 (DOCE L 253), relativa a los aspectos científicos y a la presentación de la información necesaria para secundar las solicitudes de puesta en el mercado de nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios, la presentación de dicha información y la

- elaboración de los informes de evaluación inicial de conformidad con el Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo.
- Recomendación 2003/556/CE de la Comisión sobre las Directrices para la elaboración de estrategias y mejores prácticas nacionales con el fin de garantizar la coexistencia de los cultivos modificados genéticamente con la agricultura convencional y ecológica.
- Recomendación 2004/787/CE de la Comisión, relativa a las directrices técnicas de muestreo y detección de organismos modificados genéticamente y de material producido a partir de organismos modificados genéticamente, como productos o incorporados a productos, tal y como vienen determinados en el Reglamento 1830/2003/CE.
- Reglamento (CE) n° 2100/1994 relativo a la protección comunitaria de las obtenciones vegetales.
- Reglamento (CE) n° 1238/1995, por el que se establecen las disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) n° 2100/94 del Consejo en lo que respecta a las tasas que deben pagarse a la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales.
- Reglamento (CE) n° 1768/1995 de la Comisión, de 24 de julio de 1995, por el que se adoptan normas de desarrollo de la exención agrícola contemplada en el apartado 3 del artículo 14 del Reglamento (CE) n° 2100/94 relativo a la protección comunitaria de las obtenciones vegetales.
- Reglamento (CE) n° 258/1997 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de enero de 1997, sobre alimentos e ingredientes alimentarios nuevos.
- Reglamento (CE) n° 1813/1997, de 19 de septiembre (DOCE L 324), relativo a la indicación obligatoria en el etiquetado de determinados productos alimenticios fabricados a partir de organismos modificados genéticamente de información distinta de la prevista en la Directiva 79/112/CEE.
- Reglamento (CE) n° 1139/1998, de 26 de mayo (DOCE L 159), relativo a la indicación obligatoria en el etiquetado de determinados productos alimenticios fabricados a partir de organismos modificados genéticamente, de información distinta a la prevista en la Directiva 79/112/CEE.
- Reglamento (CE) n° 49/2000 de la Comisión de 10 de Enero de 2000 por el que se modifica el Reglamento (CE) N° 1139/98 del Consejo relativo a la indicación obligatoria, en el etiquetado de determinados productos alimenticios fabricados a partir de organismos modificados genéticamente, de información distinta de la prevista en la Directiva 79/112/CEE.
- Reglamento (CE) n° 50/2000 de la Comisión de 10 de Enero de 2000 relativo al etiquetado de los productos alimenticios e ingredientes alimentarios que contienen aditivos y aromas modificados genéticamente o producidos a partir de organismos modificados genéticamente.

-
- Reglamento (CE) n° 1852/2001 de la Comisión, (DOCE L 253) de 20 de septiembre de 2001, por el que se establecen normas detalladas para hacer públicas determinadas informaciones y para la protección de la información facilitada de conformidad con el Reglamento (CE) N° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo.
- Reglamento (CE) n° 178/2002, de 28 de enero (DOCE L 31), por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria.
- Reglamento (CE) n° 1642/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de julio de 2003 (DOCE L 245), que modifica el Reglamento (CE) N° 178/2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria.
- Reglamento (CE) n° 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2003, sobre alimentos y piensos modificados genéticamente.
- Reglamento (CE) n° 1830/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2003, relativo a la trazabilidad y al etiquetado de organismos modificados genéticamente y a la trazabilidad de los alimentos y piensos producidos a partir de éstos, y por el que se modifica a la Directiva 2001/18/CE.
- Reglamento (CE) n° 1946/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de julio de 2003, relativo al movimiento transfronterizo de OGMs.
- Reglamento (CE) n° 65/2004 de la Comisión, de 14 de enero de 2004, por el que se establece un sistema de creación y asignación de identificadores únicos a los organismos modificados genéticamente.
- Reglamento (CE) n° 641/2004 de la Comisión, de 6 de abril de 2004, sobre las normas de desarrollo del Reglamento (CE) N° 1829/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo a la solicitud de autorización de nuevos alimentos y piensos modificados genéticamente, la notificación de productos existentes y la presencia accidental o técnicamente inevitable de material modificado genéticamente cuya evaluación de riesgo haya sido favorable.
- Reglamento (CE) n° 1981/2006 de la Comisión, de 22 de diciembre de 2006, sobre las normas de desarrollo del artículo 32 del Reglamento 1829/2003/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo relativo al laboratorio comunitario de referencia para los organismos modificados genéticamente (DOUE n° L 368, de 23.12.06).
- Reglamento (CE) n° 298/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de marzo de 2008, por el que se modifica el Reglamento (CE) no 1829/2003 sobre alimentos y

piensos modificados genéticamente, por lo que se refiere a las competencias de ejecución atribuidas a la Comisión.

Reglamento del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los fines del Procedimiento en Materia de Patentes, adoptado el 28 de abril de 1977 y modificado el 20 de enero de 1981 y el 2 de octubre de 2002.