

Felipe Demício Fernandes Pereira

# Visão Global sobre Vacinas Edíveis na Prevenção de Doenças Infeciosas

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,  
orientada pela Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro e apresentada à  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

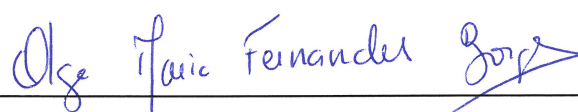
Eu, Felipe Demício Fernandes Pereira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009004, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular. Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de julho de 2014.

---

Felipe Demício Fernandes Pereira

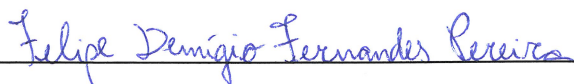
A Tutora



---

(Professora Doutora Olga Maria Fernandes Borges Ribeiro)

Estudante



---

(Felipe Demício Fernandes Pereira)

### **Agradecimentos**

À Professora Doutora Olga Ribeiro, pelas orientações e conselhos;

Aos restantes docentes da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pelas suas lições e incentivos para alcançar a excelência;

Aos colegas de Curso, pelo seu companheirismo, partilha e amizade;

À família e aos amigos, pela sua fé e apoio ao longo deste percurso;

Muito Obrigado!

## Resumo

No grupo das vacinas edíveis estão incluídas as plantas transgênicas que expressam antígenos de agentes patogênicos e que se destinam ao consumo, humano ou animal, para dessa forma estimular o sistema imunitário do indivíduo, ficando este protegido contra a doença no caso de um futuro contacto com o agente etiológico em questão. Esta ideia foi desenvolvida na tentativa de se encontrar uma alternativa de menor custo às vacinas atuais que também apresentasse vantagens na sua administração e estabilidade, melhorando o acesso à imunização por parte das populações em maior risco e mais carenciadas. Já existem estudos que demonstram a viabilidade da produção de antígenos em plantas e a sua capacidade em induzir uma resposta imune após a sua ingestão em determinados regimes de administração. Várias plantas têm sido utilizadas para esse fim, como por exemplo a batata, o tomate e o milho, sendo capazes de expressar antígenos de uma grande variedade de agentes infecciosos, entre eles o Vírus da Hepatite B e o Vírus da Imunodeficiência Humana. No entanto, ainda existem vários desafios a ultrapassar, sendo um deles a necessidade de mais estudos, principalmente ensaios clínicos, o que explica o facto de ainda não existir nenhum produto deste tipo disponível no mercado. Os Farmacêuticos, enquanto profissionais que zelam pela melhoria das condições de saúde das populações, podem ter um papel importante no desenvolvimento das vacinas edíveis, pois estão inseridos na comunidade científica, nas empresas farmacêuticas e nas autoridades regulamentares, elementos-chave para o sucesso desta nova tecnologia.

## **Abstract**

Edible vaccines include transgenic plants capable of expressing pathogen antigens and are intended for human or animal consumption, that way stimulating the individual's immune system and conferring protection against disease, should there be contact with the infectious agent in the future. This idea was developed in an attempt to find a less expensive alternative to current vaccines that would also be easier to administer and have better stability profile. Consequently, populations at a higher risk and in fragile socioeconomic conditions would be granted broader access to immunization. Studies have been conducted which demonstrate the feasibility of antigen production in plants and their capability of inducing an immune response after administration to individuals in certain immunization schedules. Various plants have already been used for this purpose, for example potatoes, tomatoes, and maize, being at the same time able to express antigens of a wide variety of pathogenic agents, for instance, Hepatitis B virus and Human Immunodeficiency virus. However there are many challenges to overcome and one of them is the need for more studies, mainly clinical trials, which could explain the inexistence of such products in the market. Pharmacists are professionals concerned with the improvement of health conditions of populations and their important role in edible vaccine development comes from the fact that they are a part of the scientific community, of the pharmaceutical companies, and of regulatory authorities, all of them being key elements for the success of this new technology.

## Índice

Resumo .....	i
Abstract .....	ii
Abreviaturas .....	2
Introdução .....	3
Doenças Infeciosas, Vacinação e Alimentação .....	6
Hepatite B .....	7
HIV/SIDA .....	10
Reflexão Final .....	11
Referências .....	13

## Índice de Tabelas

Tabela I .....	9
----------------	---

## **Abreviaturas**

GALT – *Gut-associated Lymphoid Tissue* – Tecido Linfoide Associado ao Trato Gastrointestinal

HBsAg – *Hepatitis B Surface Antigen* – Antígeno de Superfície do Vírus da Hepatite B

HBV – *Hepatitis B Virus* – Vírus da Hepatite B

HIV – *Human Immunodeficiency Virus* – Vírus da Imunodeficiência Humana

HIV-1 – *Human Immunodeficiency Virus type 1* – Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1

IgA – *Immunoglobulin A* – Imunoglobulina A

IgG – *Immunoglobulin G* – Imunoglobulina G

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

VLP – *Virus-like Particle* – Partícula tipo Vírus

WHO/OMS – *World Health Organization* – Organização Mundial de Saúde



## Introdução

No momento presente, a Humanidade dispõe já de muito conhecimento e capacidade tecnológica ao serviço da saúde e bem-estar. Longe vão os tempos em que a saúde e a doença eram explicadas pelas forças sobrenaturais. Hoje conhecemos bem o corpo humano, na sua dimensão estrutural e funcional, sobretudo com base em Química e em Física.

Conhecemos hoje as doenças, muitas das suas causas e mecanismos de evolução, quase sempre identificados e caracterizados com base na bioquímica. Apesar deste conhecimento, quando olhamos atentamente para o nosso espaço encontramos um cenário com grandes assimetrias regionais, sobretudo determinadas por razões económicas e convicções filosóficas e religiosas. Em consequência deste facto, a realidade mostra-nos que em muitas regiões do mundo continuam a haver grandes carências alimentares e uma grande falta de condições básicas de higiene e de infraestruturas de saúde. Estas condições de vida levam à proliferação de doenças que começam a ser raras em países desenvolvidos. Hoje com a maior capacidade de mobilidade humana torna-se mais rápida e fácil a disseminação das doenças de um espaço para outro (1). Estas situações aumentam a pressão para que se invista no desenvolvimento de tecnologias de baixo custo e de fácil aplicação a nível mundial. Interessa, portanto, entender as condições financeiras e sociais que podem contribuir para algumas dificuldades de forma a se desenvolver uma metodologia simples, de baixo custo financeiro e de fácil implementação global.

A saúde humana é apenas uma componente da saúde do planeta em geral que, por sua vez, diz respeito a todos os seres vivos que nele habitam, ou seja, está ligada à saúde ambiental, à dos seres vegetais, fungos, micro-organismos e seres animais. Como tal, só parece ser atingível um nível satisfatório de saúde humana através de um equilíbrio entre todos os elementos desta rede. Este facto sugere que o caminho mais acertado será através da adaptação da espécie humana e da sua capacidade de tolerar os contactos com as outras espécies sem produção de doença. A procura pela melhoria da saúde deve fazer-se pela convivência pacífica, procurando uma melhor harmonia com as várias espécies com as quais contactamos, o que em boa parte poderá ser alcançado pela vacinação. A vacinação é um dos meios mais importantes para erradicar doenças infecciosas na espécie humana e também em medicina veterinária (2). Até ao momento presente, dispõe-se de uma metodologia para a vacinação que passa, a maioria das vezes, pela administração por via parenteral, apresentando todos os riscos associados à

administração de preparações injetáveis. Para além disso, a produção das vacinas convencionais habitualmente requer condições mais exigentes de produção o que torna o processo mais oneroso.

No sentido de contornar esta situação, a hipótese da inclusão da vacinação na alimentação, isto é, incluir os antigénios necessários para estimular o sistema imunológico nas plantas da alimentação na dosagem adequada, começou a ser ponderada e do ponto de vista teórico parece ser a solução ideal. Por outras palavras, anseia-se conseguir modificar algumas plantas comestíveis, de modo a produzirem os antigénios que devem ser administrados para fins de vacinação.

Esta questão levanta alguns problemas relacionados com a concentração e dosagem dos antigénios, a duração da estimulação imunológica, entre outras, mas esta nova metodologia seria uma solução muito útil para a melhoria das condições de saúde e poderia ser mais facilmente utilizada nas regiões de menores recursos económicos.

Atualmente, existe já muito trabalho realizado nesta área da utilização de plantas transgénicas para produção de vacinas (3), trabalhos estes que têm usado um variado leque de plantas, como a alface, a cenoura, o milho, a batata e o tomate, entre muitas outras. Nestes estudos também se tem procurado a produção de diversos antigénios de diferentes agentes etiológicos, com por exemplo, antigénios de HIV, de HBV, de *Escherichia coli* e da toxina da cólera, entre muitos outros (4).

Agora a comunidade científica tem conhecimento suficiente sobre os potenciais antigénios, sobre o seu reconhecimento pelo sistema imunológico e consequente resposta a este estímulo. No caso dos antigénios (proteínas) expressos pelas plantas edíveis, eles devem chegar às placas de Peyer, localizadas em toda a extensão do intestino, onde podem dar origem a uma resposta adequada do sistema imunológico. No entanto, alguns antigénios não são reconhecidos como agentes estranhos, tornando-se necessária a utilização de adjuvantes (5). Não menos importante, é necessário perceber de que modo as plantas comestíveis podem ser utilizadas para estimular o sistema imunológico e prolongar o tempo de proteção conferido pela vacina. Também interessa perceber o que é possível obter de resposta em pessoas de capacidade imunológica diferente e se temos possibilidade de melhorar as respostas mesmo para os doentes com o sistema imunológico mais debilitado.

A nossa sociedade planetária, como já foi dito, é um tecido muito fragmentado, onde a maioria dos países têm uma capacidade financeira baixa e é frequente alguma dificuldade em termos tecnológicos e alimentares. Alguns problemas desta natureza, alimentar e higiénica, podem ser dificuldades a ultrapassar para a distribuição de vacinas edíveis, mas certamente serão barreiras menos significativas do que aquelas que se colocam hoje à distribuição de vacinas convencionais mais dispendiosas. Atualmente, temos capacidade tecnológica para modificar genomas e introduzir nas plantas informação para a produção de novas moléculas, isto é, criar plantas transgênicas. Está chegada a hora de vencer algumas barreiras económicas, financeiras e éticas para que este novo procedimento tenha impacto social planetário e não se fique apenas no nicho dos que detêm os recursos financeiros importantes. Hoje temos esta tecnologia relativamente bem estabelecida e disponível para ser utilizada na busca pela saúde humana.

Para um Farmacêutico, o estudo e desenvolvimento não só de vacinas edíveis como de qualquer tipo de produto com o objetivo de modificar a resposta imunológica a entidades estranhas, ou não, ao organismo é de extrema importância. Segundo as normas jurídicas que se aplicam aos medicamentos e à atividade farmacêutica, o Farmacêutico deve tomar parte ativa em todas as etapas do ciclo de vida de um medicamento, desde a sua pesquisa e desenvolvimento até à sua possível retirada do mercado (6) (7). O Farmacêutico, como agente de saúde pública, tem como um dos seus deveres a promoção da educação das populações acerca das metodologias utilizadas para prevenir a propagação de doenças infecciosas, sendo uma delas a vacinação, e também acerca das metodologias que ainda estão em desenvolvimento, mas que de alguma forma se mostrem promissoras e passíveis de serem exploradas mais extensamente. Como tal, o tema desta Monografia reflete precisamente esse dever e espera-se que possa mostrar os avanços conseguidos na área da tecnologia das vacinas edíveis, contribuindo dessa forma para o fim último da atividade farmacêutica, a promoção de saúde pública e dos indivíduos que constituem a sociedade, da qual faz parte também o próprio Farmacêutico.

## **Doenças Infeciosas, Vacinação e Alimentação**

Apesar do avanço do conhecimento e da tecnologia na área da saúde, as doenças infecciosas, provocadas por uma variedade grande de agentes etiológicos, continuam a ser um problema de saúde pública a nível mundial. Às doenças para as quais os esforços de combate e controlo ainda são insuficientes, juntam-se novas doenças e outras que estão a reemergir (8), com relatos de agentes patogénicos que estão a adquirir resistências aos medicamentos utilizados nos tratamentos (1).

Como tal, parece que a utilização de vacinas seria o caminho mais adequado para combater estes problemas. No entanto, não existem vacinas suficientes para prevenir todas as doenças infecciosas. Adicionalmente, estima-se que tenham morrido 5,2 milhões de crianças com menos de 5 anos, sendo que cerca de 29 % destas mortes foram provocadas por doenças para as quais existem vacinas preventivas (9).

Numa tentativa de ultrapassar os problemas que as vacinas atuais encontram e de procurar novas tecnologias que permitam o desenvolvimento de novas vacinas, o conceito de vacinas edíveis ganhou impulso. Algum trabalho já foi feito neste âmbito, nomeadamente a modificação de várias plantas comestíveis. Entre as mais utilizadas estão a alface, espinafre, batata, cenoura, tomate, milho, arroz, feijão, entre outras. Muitas delas foram escolhidas para a modificação devido a serem vistas como seguras para o consumo mesmo sem processamento adicional (3).

Está claro que quando se fala em plantas como veículos para as vacinas não significa que a planta toda deverá ser ingerida, pois é comum entre as espécies vegetais que apenas algumas partes das mesmas sejam comestíveis. Portanto, durante o desenvolvimento das vacinas edíveis um fator importante a ter em conta é o local da planta onde a expressão dos antigénios pretendidos é a mais adequada. À luz deste requisito, as sementes parecem ser candidatas a ocupar um lugar de destaque no desenvolvimento desta tecnologia, pois as suas características permitem-lhes preservar proteínas, por exemplo vários antigénios de agentes etiológicos, durante longos períodos de tempo, preservando as suas características e eliminando a necessidade de condições de armazenamento muito exigentes (3).

A maioria dos estudos realizados até agora apenas utilizou experimentação animal para verificar a capacidade de produção de resposta imune após a ingestão de plantas que expressam o antigénio do agente patogénico em causa. Vacinas edíveis que previnam infeções por *E. coli*

enterotoxigénica, *Vibrio cholerae*, vírus da Febre Aftosa (no campo da Medicina Veterinária), vírus da raiva e vírus do sarampo estão entre as vacinas mais testadas (4). De seguida apresentam-se alguns exemplos já estudados.

## Hepatite B

A infeção pelo vírus da hepatite B é um problema grave de saúde pública ainda não resolvido, apesar de se dispor, já há vários anos, de uma vacina convencional com resultados aceitáveis, tendo sido a primeira vacina recombinante a estar disponível no mercado (10). Em 1996, calculava-se a existência de 115 milhões de pessoas infetadas com HBV (11). Em 2005, este número já estava estimado em 2 bilhões (12). Em 2006 calculava-se que havia cerca 4000 milhões de portadores crónicos e por ano faleciam um milhão de doentes com esta patologia ou quadros clínicos que lhe estavam associados (13). O combate à infeção por HBV deverá continuar a ser uma prioridade a nível mundial.

No caso da Hepatite B, o antigénio com maior interesse para produzir uma resposta imune é o antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) (4). Este é uma proteína que se encontra à superfície do envelope viral e pode ser reconhecido por anticorpos, sendo altamente imunogénica (14). Por já se conhecer relativamente bem este vírus, a doença que causa, as suas vias de transmissão e os modos de prevenção da infeção, muitos grupos de investigação decidiram investir no desenvolvimento de uma vacina edível contra a Hepatite B (15), estando bem estudado em alguns casos a sua síntese pelas plantas e as necessidades da sua concentração para desencadear uma resposta imunologicamente significativa (12). Está hoje demonstrada a produção de VLPs (partículas tipo vírus) de HBsAg em plantas (16). Na batata (tubérculo) calcula-se que a expressão desta proteína atinja 0,002 % do seu peso fresco, no *cherry tomatillo* (*Physalis ixocarpa* Brot) este valor desce para 0,000001 % do seu peso fresco (12). A expressão do antigénio HBsAg também foi conseguida em folhas da planta do tabaco (*Nicotiana benthamiana*), em tomate, amendoim, tomate-cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill.), banana, cenoura, soja e algas (*Thallus laminariae*) (4).

RUKAVTSOVA *et al.* (17), publicavam em 2011 um estudo efetuado com batatas transgénicas que sintetizavam HBsAg. Neste estudo as batatas continham uma concentração baixa de antigénio, da ordem de 20 µg por cada 20 g de tubérculo. Estas batatas foram administradas a murganhos em três dias, distanciados entre si de uma semana. Foram doseados

os anticorpos específicos no soro avaliando assim a eficácia da vacina, tendo os autores verificado que se produzia uma resposta imune específica ao antígeno.

Em 2012, HAYDEN *et al.* (18) viram o seu estudo publicado e nele descrevia-se a administração a murganhos de vacina injetável comercial, preventiva da Hepatite B seguida da administração de 3 reforços da vacina edível. Cada reforço consistia em 3 doses diárias consecutivas de 0,83 mg de HBsAg em 5 g de germen de milho, com e sem adjuvante LT(R192G/L211A). O doseamento de anticorpos revelou um aumento de IgG no soro e de IgA fecal o que sugeriu o estabelecimento de memória imunológica sistêmica e nas mucosas do trato digestivo, embora se referisse a necessidade de estudos a longo prazo.

Em um outro estudo de 2012, de SALYAEV *et al.* (14), foram feitas 2 administrações a murganhos, com um intervalo de 14 dias entre si, de 0,5 g de tomate liofilizado. A quantidade de HBsAg administrada foi determinada e verificou-se que foi entre 130-211 ng por mg de proteína solúvel total. Verificou-se que a produção de anticorpos no soro aumentou significativamente e a sua quantidade manteve-se elevada durante 3 meses após a primeira administração. Também se detetou um aumento de anticorpos nas fezes dos murganhos e esse aumento também se prolongou durante, pelo menos, 3 meses. Estes resultados mostram a elevada imunogenicidade dos antígenos obtidos na planta transgênica e a indução de resposta imune tanto sistêmica como da mucosa (14). Por conseguinte, estas informações vêm suportar a ideia de que este tipo de vacinas é capaz de produzir memória imunológica.

THANAVALA *et al.* (11) publicaram em 2005 um ensaio clínico, ou seja, um ensaio em seres humanos aos quais foi dada a ingerir uma dose entre 100 g e 110 g de pedaços de batatas cruas e descascadas, o que correspondia a  $8,5 \pm 2,1$   $\mu$ g HBsAg por grama de batata. Todos os indivíduos haviam sido vacinados previamente com a vacina comercial. A administração da vacina edível foi feita em diferentes regimes (Tabela 1). No primeiro grupo, 62,5 % dos indivíduos apresentou concentrações séricas de anticorpos aumentadas, enquanto que 52,9 % dos indivíduos que apenas ingeriram 2 doses da vacina apresentaram um aumento semelhante. No entanto é referido que não se pesquisou uma resposta imune da mucosa nem se efetuaram estudos em indivíduos não previamente vacinados. Apesar disso estes resultados demonstram que as vacinas edíveis podem constituir uma importante ferramenta de auxílio ao programa de imunização global (11).

Tabela I – Estudos publicados sobre vacinas edíveis contra a infecção por Vírus da Hepatite B.

Espécie experimental	Constituição da Vacina	Regime de administração	Resposta Imunológica Registrada	Referência
<b>Murganhos</b>	20 µg HBsAg / 20 g tubérculo de batata	Dias 1, 7, 14.	Anticorpos no soro.	(17)
	20 µg HBsAg / 20 g tubérculo de batata + 20 µg adjuvante <i>glycopin</i> (GMDP)	Dias 1, 7, 14.	Anticorpos no soro.	
<b>Murganhos</b>	0,83 mg HBsAg / 5 g de gérmem de milho / dose diária	Vacina comercial no dia 0. 3 doses em dias consecutivos / reforço nas semanas 13, 15, 17.	IgG no soro, IgA fecal.	(18)
	0,83 mg HBsAg / 5 g de gérmem de milho / dose diária + adjuvante LT(R192G/L211A)	Vacina comercial no dia 0. 3 doses em dias consecutivos / reforço nas semanas 13, 15, 17.	IgG no soro, IgA fecal.	
<b>Murganhos</b>	130,48-211,28 ng HBsAg / mg proteína total solúvel 0,5g tomate liofilizado	Dias 0, 14.	Anticorpos no soro. Anticorpos nas fezes.	(14)
<b>Humanos</b>	8,5 ± 2,1 µg HBsAg / 100-110 g batata crua (tubérculo)	Dias 0, 28 ou dias 14, 28.	52,9 % indivíduos com aumento de concentração sérica de anticorpos.	(11)
		Dias 0, 14, 28.	62,5 % indivíduos com aumento de concentração sérica de anticorpos.	

Os estudos indicados tornam claro o potencial que a tecnologia das vacinas edíveis têm para produzir respostas imunológicas quer sistémicas quer a nível da mucosa do trato gastrointestinal, o que é muito favorável tendo em conta as vias de transmissão do Vírus da Hepatite B (19).

## HIV/SIDA

Apesar de os números de novas infeções por HIV (vírus da imunodeficiência humana) e de mortes devidas a complicações decorrentes da SIDA (síndrome da imunodeficiência adquirida) terem vindo a diminuir nos últimos anos, ainda existem problemas com os quais se deve lidar rapidamente. Em todo o mundo, por ano, 2 milhões de pessoas são infetadas com este vírus e a maioria das pessoas que já estão infetadas, em países de médio e baixo rendimento, não sabem que o estão. Outro facto preocupante é que se está a verificar um aumento do número de infeções que ocorrem entre parceiros em casais onde apenas um deles estava infetado (20).

Aos esforços presentes no sentido de controlar esta situação, poderá juntar-se a tecnologia das vacinas edíveis, dado que já existe trabalho no sentido de desenvolver uma metodologia que consiga levar à proteção dos indivíduos contra as infeções por HIV.

Um estudo levado a cabo por LINDH *et al.* (21), em 2008, propunha-se a avaliar a resposta imune sistémica obtida após a administração de uma vacina edível a murganhos. A planta utilizada foi *Arabidopsis thaliana* devido à existência de semelhanças entre esta e outras plantas do género *Brassica*, como por exemplo as couves, que são utilizadas pelos seres humanos em alguns pontos do globo e podem ser comidas cruas, aspecto essencial uma vez que as temperaturas verificadas durante vários tipos de processamento de alimentos poderiam desnaturar o material antigénico presente na planta.

Aos murganhos foram fornecidos 10-12 g de planta fresca, que estiveram disponíveis continuamente durante 48 horas, permitindo que os animais comessem livremente. Esta porção foi disponibilizada no dia 0 e dia 14 do ensaio. Em cada grama de planta fresca existiam cerca de 0,5 µg de proteína p24. Foi escolhida esta proteína como antigénio a ser incluído na vacina edível por ser uma proteína estrutural da cápside da partícula viral e, por isso, ser relativamente bem conservada entre os subtipos de HIV. Os murganhos, após 28 dias da primeira administração, apresentaram valores elevados de IgG sérica específica contra o antigénio em questão, o que indica que a administração de *A. thaliana* transgénica fresca induziu uma resposta imune sistémica (21).

Os resultados apresentados parecem promissores e renovam a esperança em encontrar uma vacina para a infeção por HIV, o que seria sem dúvida um ganho em saúde para a



população mundial. Mas para atingir esse objetivo ainda são necessários mais estudos para que se tenha a certeza acerca do potencial das vacinas edíveis no combate a esta infeção.

Sabe-se que é possível obter tomates transgénicos que expressam proteínas do HIV, assim como espinafres e estes últimos, depois de administrados a murganhos, contribuíram para a verificação de um aumento da produção de anticorpos no soro (22).

No entanto, estes estudos não pesquisaram a possível indução de uma resposta imune a nível da mucosa. Esta seria uma informação muito valiosa uma vez que, em casos de primoinfeção, o HIV-1 sofre replicação massiva no tecido linfóide associado ao trato gastrointestinal (GALT) (16).

## **Reflexão Final**

As vacinas edíveis apresentam-se como uma metodologia alternativa promissora na batalha contra as doenças infecciosas. A aplicação da tecnologia disponível no sentido de desenvolver esta nova ferramenta foi proposta na década de 90 do século passado, ou seja há cerca de 20 anos (23), contudo ainda nenhum produto surgiu no mercado e os estudos em seres humanos continuam a ser escassos. Esta realidade leva à formulação de algumas questões que procuram trazer à superfície a razão pela qual as vacinas edíveis ainda se mantêm na fase de desenvolvimento.

A produção de plantas transgénicas que expressam antígenos de agentes patogénicos poderá ser facilmente implementada nas atividades agrícolas atuais, sabendo que neste momento já se pratica o cultivo de plantas geneticamente modificadas. No entanto, existe um obstáculo a transpor neste campo, que passa pela não-aceitação de plantas transgénicas na alimentação, havendo situações onde, mesmo necessitando destes produtos para suprir as carências alimentares da população, um país recusou a ajuda de outro devido ao facto de o alimento oferecido ser transgénico (22).

Adicionalmente, a contaminação de outras culturas agrícolas não modificadas é uma realidade. Alguns casos destes, datados de 2002 e 2004 (3), mostram a necessidade de haver um controlo rigoroso do cultivo de plantas transgénicas de forma a impedir que haja polinização cruzada com culturas de plantas que não foram geneticamente modificadas e também com plantas selvagens da flora natural. Este tipo de contaminação tem um impacto económico

significativo e estima-se que nos Estados Unidos os custos relacionados com estes problemas sejam cerca de 12 bilhões de dólares americanos (22).

Estes fenómenos de contaminação podem levar a situações de transferência de genes entre espécies e por conseguinte a resistências a herbicidas ou antibióticos usados como marcadores genéticos de seleção (23).

Outro problema que pode surgir, não só da contaminação mencionada anteriormente, como também da utilização inadequada das vacinas edíveis, poderá ser o aparecimento de fenómenos de tolerância aos antígenos ingeridos ou mesmo fenómenos alérgicos, aos antígenos ou a subprodutos da síntese de proteínas não nativas da planta (23). Como tal, a regulamentação sobre a produção, armazenamento e venda de vacinas edíveis terá de ser rigorosa de maneira a evitar estes problemas.

Também parece ser necessário produzir mais conhecimento acerca das dosagens necessárias para produzir a resposta imunológica pretendida, pois é essencial que se perceba quais serão os melhores regimes de administração, se serão necessárias doses de reforço e com que frequência estas deverão ser administradas. Sem estas informações, a utilização das vacinas edíveis em contexto clínico poderá levar aos mesmos problemas de tolerância e alergia referidos anteriormente (23).

Devido a estes pontos fracos da metodologia das vacinas edíveis e por receio de obtenção de grandes prejuízos em caso de falha desta nova ferramenta tecnológica, muitas empresas farmacêuticas podem sentir-se relutantes em apoiar projetos de desenvolvimento das mesmas (15). Isto apenas leva à formação de um ciclo onde as empresas não investem por falta de um produto no mercado que prove a viabilidade económica das vacinas edíveis (24) e nenhuma vacina deste tipo é lançada no mercado por falta de investimento mais aprofundado.

Apesar destes problemas, as vacinas edíveis continuam a ser uma tecnologia com vantagens importantes em relação às ferramentas utilizadas atualmente. Os obstáculos e desafios que hoje se colocam no caminho do seu desenvolvimento poderão ser ultrapassados se houver uma estreita cooperação entre a comunidade científica, os profissionais e autoridades regulamentares e as empresas farmacêuticas.

## Referências:

- (1) **Addressing the global health security agenda.** The Lancet Infectious Diseases. 4, 2014, Vol. 14, p. 257.
- (2) CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - **A CDC Framework for Preventing Infectious Diseases: Sustaining the Essentials and Innovating for the Future.** Atlanta, Georgia, Estados Unidos da América : s.n., 2011. [Acedido a 5 de Julho de 2014] Disponível na Internet: <http://www.cdc.gov/oid/docs/ID-Framework.pdf>
- (3) RYBICKI, E. P. - Plant-made vaccines for humans and animals. Plant Biotechnology Journal. 5, 2010, Vol. 8, pp. 620-637.
- (4) GUAN, Z., GUO, B., HUO, Y., GUAN, Z., DAI, J., WEI, Y. - Recent advances and safety issues of transgenic plant-derived vaccines. Applied Microbiology and Biotechnology. 7, 2013, Vol. 97, pp. 2817-2840.
- (5) HEFFERON, K. L. - The mucosal immune response to plant-derived vaccines. Pharmaceutical Research. 10, 2010, Vol. 27, pp. 2040-2042.
- (6) **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.** [Acedido a 5 de Julho de 2014.]. Disponível na Internet: [http://www.ceic.pt/portal/page/portal/CEIC/UTILIDADES\\_UTILIDADES\\_INFORMACAO/NORMATIVO/NACIONAL/CodigoDeontologico\\_OF.pdf](http://www.ceic.pt/portal/page/portal/CEIC/UTILIDADES_UTILIDADES_INFORMACAO/NORMATIVO/NACIONAL/CodigoDeontologico_OF.pdf).
- (7) DECRETO-LEI n.º 288/2001. D. R. Série I-A. 261 (10/11/2001)
- (8) FONKWO, P. N. - Pricing infectious disease: The economic and health implications of infectious diseases. European Molecular Biology Organization Reports. Special Issue, 2008, Vol. 9, pp. S13-S17.
- (9) WHO/OMS. - **Global Immunization Data.** 2014. [Acedido a 7 de Julho de 2014.] Disponível na Internet: [http://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/Global\\_Immunization\\_Data.pdf](http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/Global_Immunization_Data.pdf).
- (10) Life Sciences Foundation. - **The first recombinant vaccine.** [Acedido a 7 de Julho de 2014.] Disponível na Internet: [http://lifesciencesfoundation.org/events-The\\_first\\_recombinant\\_vaccine.html](http://lifesciencesfoundation.org/events-The_first_recombinant_vaccine.html).

- (11) THANAVALA, Y., MAHONEY, M., PAL, S., SCOTT, A., RICHTER, L., NATARAJAN, N., GOODWIN, P., ARNTZEN, C. J., MASON, H. S. - Immunogenicity in humans of an edible vaccine for hepatitis B. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 9, 2005, Vol. 102, pp. 3378-3382.
- (12) STREATFIELD, S. J. - Oral hepatitis B vaccine candidates produced and delivered in plant material. *Immunology and Cell Biology*. 3, 2005, Vol. 83, pp. 257-262.
- (13) AKBAR, S. M. F., HORIIKE, N., ONJI, M. - Immune therapy including dendritic cell based therapy in chronic hepatitis B virus infection. *World Journal of Gastroenterology*. 18, 2006, Vol. 12, pp. 2876-2883.
- (14) SALYAEV, R.K., REKOSLAVSKAYA, N. I., STOLBIKOV, A. S., TRET'YAKOVA, A. V. - Candidate Mucosal Vaccine against Hepatitis B Based on Tomatoes Transgenic for the preS2-S Gene. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 5, 2012, Vol. 446, pp. 583-586.
- (15) GÓMEZ, E., ZOTH, S. C. BERINSTEIN, A. - Plant-based vaccines for potential human application: a review. *Human Vaccines*. 11, 2009, Vol. 5, pp. 738-744.
- (16) GRECO, R., MICHEL, M., GUETARD, D., CERVANTES-GONZALEZ, M., PELUCCHI, N., WAIN-HOBSON, S., SALA, F., SALA, M. - Production of recombinant HIV-1/HBV virus-like particles in *Nicotiana tabacum* and *Arabidopsis thaliana* plants for a bivalent plant-based vaccine. *Vaccine*. 49, 2007, Vol. 25, pp. 8228-8240.
- (17) RUKAVTSOVA, E. B., CHEBOTAREVA, E. N., RUDENKO, N. V., BURYANOV, YA. I. - Immunogenicity of biologically safe potato tubers synthesizing hepatitis B surface antigen. *Doklady Biological Sciences*. 4, 2011, Vol. 437, pp. 110-112.
- (18) HAYDEN, C. A., STREATFIELD, S. J., LAMPHEAR, B. J., FAKE, G. M., KEENER, T. K., WALKER, J. H., CLEMENTS, J. D., TURNER, D. D., TIZARD, I. R., HOWARD, J. A. - Bioencapsulation of the hepatitis B surface antigen and its use as an effective oral immunogen. *Vaccine*. 19, 2012, Vol. 30, pp. 2937-2942.
- (19) WHO/OMS. - **Hepatitis B vaccines**. *Weekly Epidemiological Record*. 84, 2009, Vol. 40, pp. 405-420. [Acedido a 7 de Julho de 2014.] Disponível na Internet: <http://www.who.int/wer/2009/wer8440.pdf?ua=1>
- (20) **HIV Programme: Achieving Our Goals - Operational Plan 2014-2015**. Genebra : World Health Organization, 2014. pp. 1-2. ISBN 978 92 4 150711 0.

- (21) LINDH, I., KALBINA, I., THULIN, S., SCHERBAK, N., SÄVENSTRAND, H., BRÅVE, A., HINKULA, J., STRID, A., ANDERSSON, S. - Feeding of mice with *Arabidopsis thaliana* expressing the HIV-1 subtype C p24 antigen gives rise to systemic immune responses. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 11, 2008, Vol. 116, pp. 985-994.
- (22) LAL, P., RAMACHANDRAN, V. G., GOYAL, R., SHARMA, R. - Edible vaccines: current status and future. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2, 2007, Vol. 25, pp. 93-102.
- (23) KIRK, D. D., MCINTOSH, K., WALMSLEY, A. M., PETERSON, R. K. D. - Risk analysis for plant-made vaccines. *Transgenic Research*. 4, 2005, Vol. 14, pp. 449-462.
- (24) KIRK, D. D., WEBB, S. R. - The next 15 years: Taking plant-made vaccines beyond proof of concept. *Immunology and Cell Biology*. 3, 2005, Vol. 83, pp. 248-256.