

REIAL ACADÈMIA DE FARMÀCIA DE CATALUNYA
(RAFC)



LES RECOMANACIONS DE L'ACADÈMIA

Comissió Científica de la RAFC:

- Dra. Montserrat Baiget
- Dra. Núria Casamitjana
- Dr. Julià Garcia Rafanell
- Dr. Santiago Grau
- Dr. Francesc Jané
- Dr. Francisco Javier Luque
- Dr. Jesús Llenas
- Dr. Jaume Piulats
- Dr. Tomàs Pumarola
- Dra. Montserrat Rivero
- Dr. Joan Sabater

President de la Comissió Científica: Dr. Jaume Piulats
Contacte: secretaria@rafc.cat

Edita: Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya
Carrer de l'Hospital, 56
08001 Barcelona

Imprimeix: TIRO Y RETIRO

Dipòsit legal: B 5109-2019

LES RECOMANACIONS DE L'ACADEMIA

LA BIOTECNOLOGIA: IMPORTÀNCIA TERAPÈUTICA I SOCIOECONÒMICA DELS MEDICAMENTS BIOTECNOLÒGICS

Autors:

- Dr. Jaume Piulats¹
- Dra. Elisabet Rosell²
- Dr. Antoni Iborra³
- Dra. Susana Clemente⁴
- Dr. José Bruno Montoro⁴
- Dra. Elena González⁵
- Dr. David Conde⁶
- Dra. Regina Múzquiz⁷
- Dr. Carlos Lens⁸
- Dr. Santiago Cuéllar⁹
- Dr. Carlos Ciudad¹⁰
- Dr. Xavier Fernández¹¹

Coordinador

- Dr. Jaume Piulats

¹ President de la Comissió Científica de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

² Head of Biological Sciences, Reig Jofré. Professor Department of Experimental and Health Sciences. Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida, Universitat Pompeu Fabra.

³ Servei de Cultius Cel·lulars. Producció d'Anticossos i Citometria (SCAC). Universitat Autònoma de Barcelona.

⁴ Servei de Farmàcia. Hospital Universitari Vall d'Hebrón (Barcelona).

⁵ Adjunta. Servei de Farmàcia Hospital del Mar, Barcelona. Professora Associada Mèdica, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona.

⁶ Consultor. Servei de Farmàcia, Hospital del Mar, Barcelona. Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM) Barcelona. Professor Associat Mèdic, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona.

⁷ Directora General de BioSim, Asociación Española de Biosimilares.

⁸ Consultor. Académico Correspondiente de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

⁹ Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Académico Correspondiente de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

¹⁰ Departament de Bioquímica i Fisiologia. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona.

¹¹ Nanomalaria Group, Institut for Bioengineering of Catalonia (IBEC). The Barcelona Institut of Science and Technology, Barcelona.

Barcelona Institut for Gobral Health (IS Global, Hospital Clínic- Universitat de Barcelona).

Índex

Conclusions i Recomanacions	9
1. Introducció a la biotecnologia farmacèutica.	
Antecedents històrics	
Jaume Piulats	17
2. Obtenció de fàrmacs biotecnològics	
2.1. Proteïnes recombinants. Elisabet Rosell	25
2.2. Anticossos monoclonals. Antoni Iborra	33
3. Aplicacions terapèutiques. Medicaments biotecnològics	
Susana Clemente i J. Bruno Montoro.....	41
4. Efectes adversos. Farmacovigilància	
Elena González i David Conde	55
5. Medicaments biosimilars	
Regina Múzquiz	75
6. El desenvolupament dels medicaments biosimilars a Espanya	
Carlos Lens	89
7. El futur de la biotecnologia	
7.1. Proteïnes recombinants d'interès farmacològic	
Santiago Cuéllar	103
7.2. Anticossos monoclonals	
Antoni Iborra	111
7.3. Perspectives de la immunoteràpia del càncer	
Santiago Cuéllar	117
7.4. Aplicacions biomèdiques dels oligonucleòtids	
Carlos Ciudad	125
7.5. Nanotecnologies	
Xavier Fernández	133

**LA BIOTECNOLOGIA: IMPORTÀNCIA
TERAPÈUTICA I SOCIOECONÒMICA DELS
MEDICAMENTS BIOTECNOLÒGICS**

CONCLUSIONS I RECOMANACIONS

Els autors d'aquest estudi creiem que abans de recomanar o suggerir punts concrets d'actuació, hauríem de fer unes consideracions prèvies, que a títol de Conclusions, resumissin la situació dels agents biotecnològics, en el terreny sanitari, a la llum dels capítols que conté aquesta monografia.

Conclusions

1. En l'aspecte tecnològic, el desenvolupament de la biotecnologia és una història d'èxit. La tècnica de l'ADN-recombinant i la metodologia per a l'obtenció d'anticossos monoclonals murins van ser el punt de partida d'una veloç carrera orientada a la millora dels agents obtinguts. Avui comprem ja amb uns 200 fàrmacs biotecnològics aprovats per les autoritats sanitàries. Un salt qualitatius va ser el poder disposar, a partir del 1991, d'anticossos monoclonals humans. Casualment, en escriure aquestes línies vam rebre amb satisfacció la notícia de la concessió del Premi Nobel de Química 2018 al Dr. Gregory Winter, que va posar a punt la tecnologia per a l'obtenció dels anticossos monoclonals humans, que per la seva baixa o nul·la immunogenicitat van tenir un enorme impacte terapèutic.
2. Els medicaments de tipus biotecnològic aprovats fins al dia d'avui presenten aplicacions terapèutiques en àrees tan diverses com:
 - Teràpia antineoplásica.
 - Malalties inflamatòries autoimmunes (artritis reumatoide, psoriasis, Crohn, etc...)
 - Teràpia de malalties lisosomals.
 - Teràpia de malalties minoritàries o rares.
 - Teràpia en trasplantaments.
 - Teràpia de l'asma.
 - Teràpia de les malalties infeccioses.
 - Teràpia cardiovascular.
 - Teràpia amb anticoagulants.
 - Teràpia de la degeneració macular.
 - Teràpia de l'osteoporosi.
 - Teràpia de l'esclerosi múltiple.
 - Teràpia de l'hemofília.

El desenvolupament de la biotecnologia ha permès identificar dianes terapèutiques i amb això dissenyar fàrmacs altament específics, és a dir l'inici de la teràpia de precisió.

3. El progrés tecnològic esmentat en el punt anterior va donar lloc a una explosió en la creació de noves empreses orientades a la investigació i desenvolupament de noves dianes i agents biotecnològics. Fruit d'aquest moviment industrial la biotecnologia en l'àrea biosanitària ha suposat un impacte econòmic molt significatiu, especialment als Estats Units i Europa. Els medicaments biològics van representar, el 2017, un 20% del total del mercat farmacèutic i per al 2020 aquest percentatge pot elevar-se a un 30% del mercat farmacèutic de prescripció. Dels deu medicaments que van reportar majors vendes sis ja eren productes biotecnològics.
4. El principal problema de la teràpia amb medicaments biotecnològics és que tenen un cost molt elevat: 10.000-100.000 dòlars/any. En l'actualitat, la principal eina per aconseguir un control sobre la despesa en el pressupost del Sistema Nacional de Salut és la potenciació dels agents biosimilars. Aquests generaran un estalvi per al sistema de salut espanyol de 1.500 milions d'euros d'aquí al 2020.

Els medicaments biosimilars, amb les mateixes garanties de qualitat, seguretat i eficàcia, que el producte original, generen competència i per tant disminueixen els costos dels tractaments biològics. Això redundà en una major eficiència terapèutica i, en conseqüència, contribueix a la sostenibilitat del Sistema Nacional de Salut. Amb els biosimilars s'espera una reducció de preus de l'ordre de 20-30%.

En analitzar factors econòmics d'una determinada teràpia hauríem de tenir en compte que els fàrmacs biotecnològics poden induir una reducció significativa del temps d'hospitalització i del període de tractament, elements que poden repercutir en la reducció de costos.

Actualment la Comunitat Europea ha aprovat 43 fàrmacs biosimilars corresponents a 15 principis actius. La penetració dels biosimilars al mercat espanyol és del 14% del consum de medicaments biològics en unitats. L'entrada al mercat espanyol dels biosimilars s'està produint de forma escalonada però progressiva sense que el regulador hagi in-

troduït modificacions profundes en el marc normatiu.

Les forces del mercat actuen sobre el preu dels medicaments biosimilars amb més intensitat que sobre els medicaments genèrics. Aquest procés, desitjable des de la perspectiva de l'SNS, té efecte desincentivador sobre el desenvolupament de nous biosimilars.

La normativa sobre intercanviabilitat juga un paper clau en les decisions de prescripció i és probable que es requereixi adaptar el marc normatiu a la nova situació, especialment en els anticossos monoclonals.

5. Les possibilitats de creixement en l'àrea biomèdica de la biotecnologia són enormes, com reflecteix l'ampli capítol 7, que resumeix les possibilitats de les proteïnes recombinants, dels anticossos monoclonals, de la immunoteràpia del càncer, el desenvolupament en la utilització dels oligonucleòtids terapèutics, que s'ha vist incrementada amb la recent aprovació del primer ARNpi (Patisiran) per a ús humà, concretament per al tractament de l'amiloïdosi transtiretina hereditària, i de les nanotecnologies.

Aquestes conclusions suggereixen que la Biotecnologia serà en els propers anys una àrea d'excepcional creixement tant des del punt de vista científic i terapèutic com en l'econòmic i en conseqüència ens permeten afegir les següents recomanacions.

RECOMANACIONS

1. Creiem que el potencial de la Biotecnologia en l'espai biosanitari, aconsella un posicionament polític que condueixi a un continuat suport governamental a favor del creixement dels processos R + D + I (Recerca, Desenvolupament, Innovació) i de desenvolupament industrial. Per això, en l'àrea geogràfica que ens és pròpia, Catalunya, la nostra Acadèmia desitja recomanar un Pla d'Acció basat en l'especialització, en la inversió mixta públic-privada i en la magnífica xarxa, ja existent a Catalunya, de centres de recerca i parcs Científics de primera qualitat, incloent el suport a la investigació bàsica realitzada en les Universitats.
2. Estimular la interacció entre els grups de recerca bàsics i els equips de recerca de la indústria farmacèutica, creant espais de trobada, en què es catalitzin col·laboracions, en les que sorgeixin sinergies que indueixin l'avanç en el descobriment de nous fàrmacs.
3. Potenciar els estudis orientats a millorar els processos de producció de proteïnes recombinants i anticossos monoclonals. Especialment important seria l'establiment de l'estandardització dels processos i l'escalat industrial.
4. Els agents biotecnològics poden presentar efectes adversos per això és recomanable, recordar i estudiar la Guia de Bones Pràctiques de Farmacovigilància publicada el 2016 (específica per a fàrmacs biotecnològics) per l'Agència Europea del Medicament (EMA). Així mateix, és important potenciar els Plans de Gestió de Riscos i millorar la traçabilitat del producte.
5. Potenciar el desenvolupament de nous biosimilars i augmentar la informació clínica sobre el seu ús terapèutic als professionals de la salut i públic en general.

6. Millorar l'accessibilitat dels medicaments biològics per als pacients ambulatoris, promovent l'autorització per l'AEMPS (Agència Espanyola del Medicament i Productes Sanitaris) de la dispensació a les farmàcies comunitàries, amb tots els controls administratius que s'estimin pertinents, per a aquells medicaments biològics formulats per a la seva autoadministració pel pacient, que no requereixin cap tipus de monitorització clínica durant la seva administració. Podria aprofitar-això, a més, per recopilar una informació molt rellevant de seguretat i adherència terapèutica, que hauria de ser reportada a les autoritats sanitàries (Conselleria de Sanitat de la Comunitat Autònoma i AEMPS).
7. En les decisions dels reguladors i adquirents o prescriptors de medicaments s'ha de tenir en compte la localització de les produccions de medicaments biotecnològics -biosimilars o de referència-, així com la titularitat de les instal·lacions. La R + D + I de medicaments biotecnològics és costosa i les decisions d'inversió en actius fixos i contractació de personal revesteixen caràcter estratègic i, per això, l'assignació de recursos via mercat no ha de defugir aspectes tan rellevants i que tenen tant impacte en el desenvolupament socioeconòmic.

MONOGRAFIES

1. INTRODUCCIÓ A LA BIOTECNOLOGIA FARMACÈUTICA. ANTECEDENTS HISTÒRICS

Jaume Piulats

En primer lloc cal definir que entenem per Biotecnologia Farmacèutica. En el treball publicat, el 2008, per H. Kreuzer i A. Masey, “Molecular Biology and Biotechnology”(1) defineixen el terme “biotecnologia” com: “Utilització d’organismes vius o molècules biològiques per solucionar problemes o fabricar productes útils”. En el nostre àmbit d’actuació, la farmàcia, aquesta definició es refereix únicament a la biotecnologia aplicada al camp de la salut, és a dir, en la investigació biomèdica, en el diagnòstic de laboratori, i en la teràpia. Conseqüentment, la paraula biofàrmac, que va ser encunyada el 1980, es refereix a aquells agents terapèutics obtinguts mitjançant mètodes biotecnològics. En el treball que avui abordem des de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, ens centrarem únicament en l’ús terapèutic dels agents biotecnològics, tant en els aspectes científics com en els problemes socioeconòmics, que puguin generar pel seu elevat cost. Aquesta àrea d’estudi és la que entenem com Biotecnologia Farmacèutica. Desitgem analitzar el paper actual de la biotecnologia en la teràpia i aprofundir en els aspectes econòmics i socials als quals s’enfronten els sistema de salut pública per aconseguir que els avenços en aquest camp puguin arribar a tota la població.

A fins del segle XVIII es van produir dos avenços molt importants per al desenvolupament científic i mèdic. Ens referim a la publicació del “Traité élémentaire de chimie” per Antoine Levoisier (1789) i la utilització, per Edward Jenner (1796), per primera vegada en una persona, de la vacuna de la verola. El rigor i meticulositat del treball experimental del químic francès, Levoisier, van aconseguir il·luminar una nova concepció de les propietats de la matèria i van constituir la base de la química moderna. Per la seva banda, Jenner va aconseguir establir la vacunació com un mètode eficaç de medicina preventiva i que en alguns casos permetria eradicar la malaltia.

Al llarg del segle XIX la química de síntesi va anar progressant de mica en mica i a mitjan segle rep una empenta espectacular gràcies al treball

de William Henry Perkin, estudiant del Royal College of Chemistry de Londres, que treballant en un mètode de síntesi de la quinina, producte natural utilitzat com antipirètic en pacients de malària, va fracassar en el seu intent, però el seu treball (1856) va conduir a la síntesi de l'anilina, com a primer colorant sintètic. L'èxit econòmic i industrial en la producció de anilines va induir el creixement de laboratoris europeus dedicats a la síntesi de nous colorants i productes farmacèutics. Naixia la indústria química-farmacèutica europea, així a la fi del segle XIX, el 1895, va tenir lloc la síntesi i comercialització de l'àcid acetilsalicílic com Aspirina®. Aquest èxit farmacèutic semblava obrir la porta a un nou segle, el XX, en què la història de la farmàcia coneixeria una època excepcional. En les primeres dècades d'aquell nounat segle XX es va iniciar el desenvolupament de les grans indústries químico-farmacèutiques centreuropees. El desenvolupament de la química de colorants, com per exemple, el prontosil rubrum, va proporcionar, el 1930, una nova família d'agents terapèutics: les sulfamides. En la dècada dels quaranta, amb una Europa immersa en la bogeria bèl·lica, es va descobrir la penicil·lina, i amb ella es va iniciar una de les etapes més fructíferes amb el desenvolupament de la antibioteràpia.

Recordem aquests antecedents històrics per reforçar la idea que la química de síntesi orgànica, en el disseny de nous fàrmacs, va regnar des de finals del segle XIX i tot el segle XX, amb uns resultats espectaculars ja que ha ofert fàrmacs que han millorat i prolongat la vida mitjana de la població.

En el període que va de 1969 a 1975 la investigació científica aportar tres descobriments singulars, que van portar al naixement de la biotecnologia i a l'ús medicofarmacèutic. Ens referim a: ¹⁾ El descobriment de les citocines, ²⁾ el descobriment dels enzims de restricció i ³⁾ l'obtenció d'anticossos monoclonals. El 1969, D.C. Dumonde i col·laboradors van publicar a la revista Nature un interessant treball titulat: "Lymphokines: non-antibody mediators of cellular immunity"(2), estudi pioner que va permetre definir l'existència de mediadors químics que permetien la intercomunicació entre els components cel·lulars del sistema immunitari. Inicialment, es pensava que aquests mediadors es produïen exclusivament en els limfòcits, per això es van denominar linfocinas, però posteriorment es va comprovar que altres tipus cel·lulars poden produir mediadors i conseqüentment avui els coneixem com citocines. El segon gran descobriment, citat anteriorment, es refereix als enzims de restricció. El

1970 es van aïllar unes nucleases que, a diferència de les ja conegudes, no tallaven l'ADN a l'atzar, sinó que ho feien de forma específica en seqüències determinades, eren les anomenades endonucleases de restricció, o simplement “enzims de restricció”. La seva funció biològica era discriminat un ADN estrany respecte a l'ADN propi. Així, l'ADN estrany podia ser tallat i, finalment, degradat per la cèl·lula. L'acció selectiva dels enzims de restricció és la base per a la seva aplicació en la tecnologia de l'ADN-recombinant. La seva especificitat permet aïllar el gen codificant d'una proteïna i la seva posterior implantació en un vector (per exemple, un plasmidi bacterià), el qual, en ser transfecat en un bacteri o cèl·lula de mamífer, permetrà que aquell missatge genètic sigui llegit i es generi la proteïna codificada per aquell gen. Aquest és el fonament de la tècnica de l'ADN-recombinant, un mètode eficient que permet l'obtenció de proteïnes humanes per al seu ús terapèutic (3).

Cronològicament, l'últim descobriment al qual fèiem referència és l'obtenció d'anticossos monoclonals. El 1975, es va publicar a *Nature*, un article fonamental en el naixement de la biotecnologia farmacèutica. L'article, titulat: “Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity” (4), la qual signaven C. Milstein i G. Köhler, director del Departament d'Immunologia de la Universitat de Cambridge (UK) i un jove suís visitant postdoctoral del departament anglès, respectivament. L'objectiu del seu treball era obtenir un anticòs monoespecífico, monoclonal, davant d'una proteïna diana. Milstein i Koeler fusionar limfòcits B, procedents de la melsa de ratolins immunitzats amb la proteïna d'interès i una cèl·lula de mieloma, és a dir, una cèl·lula neoplàsica de la mateixa estirp que els limfòcits B. La fusió donava lloc a una nova cèl·lula que es va denominar “hibridoma” i que recollia les dues propietats més importants de les cèl·lules parentals: la producció de l'anticòs per part de les cèl·lules B i la immortalitat en cultiu que oferia la cèl·lula de mieloma. La fusió cel·lular es va realitzar, a la feina original, amb l'ajuda d'un virus, però posteriorment es va poder comprovar que el polietilenglicol (PEG) aconseguia una bona eficiència en el procés de fusió cel·lular, generalitzant el seu ús. El clonatge final del hibridoma és l'última etapa d'una tècnica que permet conservar, sota congelació, una nova entitat cel·lular, el hibridoma, capaç de produir l'anticòs desitjat.

El treball de Milstein i Köhler va donar ales al naixement d'una nova

indústria farmacèutica: les empreses biotecnològiques, que a partir de la dècada dels vuitanta inicen el seu recorregut als Estats Units. El 1984, Milstein i Köhler van rebre el premi Nobel de Medicina.

En el camp del diagnòstic, la utilització dels monoclonals com a eines es va estendre amb rapidesa. No obstant això, la seva utilització terapèutica presentava encara problemes que limitaven el seu desenvolupament. El principal problema era la seva immunogenicitat doncs la tècnica descrita anteriorment partia de la immunització de ratolins i, conseqüentment, la proteïna final del procés, l'anticòs monoclonal, era una proteïna murina. Per això, el sistema immunitari d'un pacient tractat amb un monoclonal d'origen murí veia a aquella proteïna com una cosa estranya i reaccionava produint, al seu torn, anticossos que bloquejaven l'anticòs terapèutic. En altres paraules, el pacient reaccionava negativament a la teràpia biològica utilitzant els seus propis sistemes de defensa. Es va encunyar el terme HAMA per als anticossos humans dirigits contra la proteïna murina (HAMA: Human Anti-Mouse Antibodies). Aquesta situació va generar, el 1985 i 1986, diversos projectes orientats a l'obtenció d'anticossos monoclonals humans. El 1991, G. Winter, de la Universitat de Cambridge, va publicar dos elegants articles (5,6) en els quals describia el mètode d'humanització dels anticossos murins mitjançant la utilització de la llavors emergent biologia molecular. Inicialment, es van construir els anticossos monoclonals químèrics en què es conservava la proteïna murina a les zones de reconeixement de l'anticòs, a continuació els "humanitzats" ("reshaped antibodies") només conservaven de la proteïna murina original els tres segments hipervariables CDRs (o Complementary Determining Regions), finalment es van obtenir anticossos monoclonals totalment humans mitjançant tècniques com la generació de soques de ratolins transgènics per als loci de les immunoglobulines humanes o bé mitjançant la tecnologia de biblioteques de fragments d'anticossos presentats en proteïnes de la superfície de fags filamentosos.

En resum, els tres descobriments que hem comentat permetre l'obtenció de citocines, proteïnes i anticossos monoclonals d'interès terapèutic.

A la dècada dels setanta, una de les citocines que va atreure l'atenció del món científic va ser el interferó leucocitari pel seu potencial activitat antiviral i antineoplásica. La seva obtenció es realitzava a partir de l'activació viral de l'anomenat "buffy-coat" d'una donació de sang, és a

dir, del sediment cel·lular resultant de separar el plasma. Un dels laboratoris que va optimitzar el mètode d'obtenció va ser el Dr. K. Cantell a les instal·lacions de la Creu Roja a Hèlsinki (Finlàndia). Lamentablement, aquest mètode d'obtenció haver de ser abandonat quan, el 1981, va aparèixer una nova malaltia, posteriorment coneguda com la sida. Els primers afectats per la malaltia a Europa havien rebut transfusions de plasma procedent dels Estats Units i a causa del desconeixement que hi havia llavors sobre l'agent causal de la malaltia, es va prohibir l'ús terapèutic dels derivats sanguinis. Afortunadament, la nova tecnologia de l'ADN-recombinant va permetre clonar el gen de l'interferon i obtenir la proteïna substituint així el mètode de Cantell (7).

En l'etapa inicial del desenvolupament biotecnològic la producció d'insulina humana recombinant representa una altra fita fonamental en la producció de proteïnes endògenes d'interès terapèutic. La insulina humana va ser, el 1982, el primer medicament biotecnològic (8).

Els anticossos monoclonals van ser aprovats com a fàrmacs uns anys més tard, així, el 1986 es va aprovar el Muromonab (Orthoclone OKT3®), un anti-CD3 indicat en el tractament del rebuig agut en trasplantaments; en el període de 1997 - 1998 vam assistir a l'aprovació del Rituximab (Rituxan®), que reconeix la molècula CD20 dels limfòcits B i va demostrar la seva eficàcia terapèutica en el tractament del limfoma no Hodgkin i el Trastuzumab (Herceptin®), anticòs anti HER2, indicat en la teràpia del càncer de mama metastàtic o el Infliximab (Remicade®), anticòs anti-TNF per al tractament de l'artritis reumatoide.

Amb l'entrada del segle XXI es va incrementar de forma significativa l'obtenció d'anticossos terapèutics, paral·lelament al desenvolupament de les tecnologies per obtenir formes humanitzades de l'anticòs, fins que es va aconseguir l'monoclonal totalment humà, el primer a aprovar-se, el 2006, va ser el panitumumab (Vectibix®), un anti-EGFR indicat en càncer colorectal.

L'arribada dels fàrmacs biotecnològics va coincidir amb una certa crisi en l'obtenció de productes de síntesi nous, semblava que la química de síntesi hagués arribat a una certa saturació dels seus recursos. El 2010, un 20% dels NMEs (New Molecular Entity) introduïts en el mercat farmacèutic havien estat obtinguts mitjançant mètodes biotecnològicos ja

el 2006 es comercialitzaven més de 200 medicament biotecnològics a tot el món, amb unes vendes estimades de 55.000 milions de dòlars (9).

En els últims anys, el paper terapèutic dels fàrmacs biotecnològics ha tingut un creixement espectacular, l'any 2012 les vendes de productes biotecnològics va aconseguir, en el conjunt mundial, a 163 mil milions de dòlars, que representa un 19% de les vendes en productes de prescripció. De 119 productes considerats *blockbusters* (és a dir amb vendes superiors a mil milions de dòlars/any) 47 (39%) van ser biotecnològics. Davant d'aquest potencial econòmic el principal problema d'aquests biofàrmacs és l'elevat cost de les teràpies innovadores que poden oscil·lar entre 10.000 i 100.000 dòlars / pacient / any. Naturalment, aquests elevats costos dificulten la seva integració en els sistemes de salut pública (10).

Ja fa uns anys, els fàrmacs de síntesi química van trobar, en l'aparició dels genèrics, una via de contenció de la despesa. Posteriorment, la possibilitat de comercialitzar els anomenats “biosimilars”, en finalitzar el període de patent del medicament biotecnològic original, ha obert la via per intentar resoldre o limitar el problema de com fer arribar aquest tipus de fàrmacs a tota la població. En qualsevol cas hem de tenir en compte que el desenvolupament d'un genèric requereix un procés de 2-3 anys i una inversió de 1-3 milions d'euros, mentre que un biosimilar necessita uns 100-300 milions d'euros i 5-8 anys de desenvolupament. Alguns països han introduït els biosimilars de manera decidida, però en d'altres, com és el cas d'Espanya, sembla existir certa reticència per part dels professionals sanitaris. En aquest treball volem analitzar la situació actual d'aquest tema per tal de fer propostes útils que ens ajudin en l'ús correcte dels agents biotecnològics (11).

Per acabar aquesta introducció podríem resumir el nostre objectiu global amb aquestes paraules: L'estudi té per finalitat estudiar el paper terapèutic dels fàrmacs biotecnològics a casa nostra, analitzant tant la situació actual com les possibilitats de desenvolupament dels propers anys. L'elevat cost d'aquest tipus de tractaments poden dificultar la seva introducció en el sistema de salut pública, per això creiem necessari abordar també els factors socioeconòmics del problema per intentar aportar propostes en els terrenys científic, tecnològic i administratiu, que afavoreixin el desenvolupament de la biotecnologia farmacèutica i que els seus beneficis sanitaris puguin arribar a tots els pacients que ho requereixin.

Bibliografia

- (1) Kreuzer H., Massey A. 2008. *Molecular Biology and Biotechnology. A guide for teachers.* ASM Press, Washington DC.
- (2) Dumonde D.C., Wolstencroft R.A., Panayi G.S., Matthew M., Morley J., Howson W.T. 1969. “Lymphokines: Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation”. *Nature Lond.* 224,38.
- (3) Primrose S.B., Twyman R. M., Old R.W. 2001. *Principles og gene manipulation.* 6a edició. Regne Unit: Blackwell Science.
- (4) Köhler G., Milstein C. 1975. “Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity”. *Nature* 256 (5517), 495-497.
- (5) Winter G., Milstein C. 1991. “Man-made antibodies”. *Nature* 349,293-299.
- (6) Marks J.D., Hoogenboom H.R., Bonnert T., Mc Cafferty J., Griffiths A.D., Winter G. 1991. “By-passing immunization human antibodies from V-gene libraries displayed on phage”. *J.Mol.Biol.* 222: 581-597.
- (7) Cantell K. 1986. “Clinical performance of natural human leukocyte interferon”. *Immunobiology* 172: 231-242.
- (8) Cuéllar S. 2009. “Citocinas y proteínas de interés terapéutico”. *Biotecnología y Biofármacos.* Consejo General de Colegios Farmacéuticos, pp. 173-209.
- (9) Scheinerd K. C., Kalinke U. 2008. “Toward Biosimilar Monoclonal Antibodies”. *Nature Biotechnology*, vol. 26, n. 9.
- (10) Saucedo J. L., Clemente S., Mendarte L., Montoro J. B. 2008. “Eficiencia de los fármacos de origen biotecnológico en el marco terapéutico actual, según los estudios farmacoeconómicos disponibles”. *Pharmacoeconomics. Spanish Research Articles* 5: 119-133.
- (11) *Libro Blanco de los medicamentos Biosimilares en España: Innovación y Sostenibilidad.* 2017. Fundación Gaspar Casal.

2. OBTCENCIÓ DE FÀRMACS BIOTECNOLÒGICS

2.1. Proteïnes recombinants

Elisabet Rosell i Vives

L'inici de la biotecnologia tal com s'entén vui dia és el desenvolupament de la tecnologia de l'ADN recombinant. Aquesta tecnologia permet produir proteïnes recombinants en bacteris i cèl·lules eucariotes. El procés resumit, es tracta d'aïllar el gen d'interès que codifica per a la proteïna desitjada, inserir aquest material genètic en un vector apropiat, introduir aquest vector en una cèl·lula hoste creant un organisme genèticament modificat. Aquesta cèl·lula haurà de ser capaç d'expressar la proteïna recombinant, que finalment serà purificada. Les cèl·lules, tant si són procariontes com eucariotes, actuen com petites factories de biofàrmacs.

ADN recombinant

El procés de producció d'una proteïna recombinant s'inicia amb l'obtenció d'un vector capaç d'introduir el ADN que volem expressar en la cèl·lula hoste. Aquesta tecnologia es va iniciar amb el descobriment dels enzims de restricció i de l'existència d'uns fragments de ADN circulars extracromosòmicos presents en els bacteris, els anomenats plasmidis. Els bacteris, especialment la *Escherichia Coli* (*E coli*) van ser les primeres cèl·lules on es van obtenir les primeres proteïnes recombinants. La primera proteïna recombinant que es va expressar en *E coli* va ser la insulina humana (Johnson, 1983). La producció biotecnològica de la insulina recombinant va permetre tractar a milions de diabètics que fins al moment només alguns tenien accés a ser tractats amb insulina purificada a partir de pàncrees de porc.

Més tard el 1984 es va descobrir la tecnologia de la Reacció en cadena de la polimerasa (PCR) que va permetre l'amplificació d'una regió concreta de ADN (Rabinow, 1996). La PCR usa una polimerasa termoresistente i dissenyant uns encebadors que ens delimiten la regió de ADN

que volem amplificar, podem obtenir milions de còpies de la seqüència compresa entre els dos encebadors. El disseny dels encebadors permet introduir unes seqüències més enllà de les homòlogues amb la seqüència que volem amplificar, on podem introduir ara una diana de restricció que ens permeti el clonatge en un determinat vector. Això permet poder clonar qualsevol gen d'interès coneixent la seva seqüència i tenint un teixit o cèl·lula que ho expressi per poder utilitzar l'ARN, passat a ADNc, com ADN motlle a partir del qual es realitzen les còpies.

Avui dia la síntesi d'ADN ha millorat i es pot aconseguir a uns preus assequibles, de manera que el material a clonar pot dissenyar i obtenir-se per síntesi de les dues cadenes de ADN que conformaran la informació per poder sintetitzar una determinada proteïna (Tian J, 2009).

Vectors

En biologia molecular, anomenem *vectors* al vehicle que ens permet introduir un gen dins d'una cèl·lula. El disseny dels vectors dependran de si finalment es va a utilitzar un sistema d'expressió en procariotes o eucariotes. Per a les bacteris, s'usen vectors que provenen dels propis plasmidis dels bacteris. Aquests plasmidis són transmesos durant el procés de divisió cel·lular. Així una vegada obtinguda el bacteri recombinant, el material introduït quedarà incorporat a les cèl·lules derivades del clon recombinant (Gerhard Hannig, 1998).

En les cèl·lules eucariotes si s'usen vectors tipus plasmidi, només s'obté una expressió transiente de la proteïna recombinant. Per aconseguir una línia cel·lular estable que expressi la proteïna recombinant, la informació genètica de la proteïna ha de quedar integrada en el genoma de la cèl·lula hoste. Per això molt sovint es fan servir virus per assegurar que el ADN recombinant entra a la cèl·lula i s'integra en el ADN (Khan, 2013).

Els vectors, a més de tenir inserit el gen d'interès a expressar, contenen un marcador que ens permet identificar aquelles cèl·lules hoste que han incorporat el vector i que per tant són capaços d'expressar la proteïna recombinant.

Cèl·lules hoste

L'elecció del sistema d'expressió a utilitzar dependrà del tipus de proteïna que s'hagi de expressar. Sempre s'anirà al sistema d'expressió més eficaç i de major rendiment. Els sistemes d'expressió comunament utilitzats per a l'expressió de proteïnes recombinants són:

- Procariotes:
 - *E. coli*
- Eucariotes
 - Cèl·lules no humanes: *CHO* (derivades d'ovari d'hàmster)
 - Cèl·lules murines: *NSO murine myeloma*
 - Cèl·lules humanes: *PERc6* (derivades de retina)

Altres sistemes d'expressió menys usats i que tenen algunes restriccions a nivell regulatori són: els llevats (especialment *Saccharomyces*) o baculovirus. Encara estan poc regulats i acceptats altres sistemes d'expressió per a proteïnes terapèutiques com podrien ser les plantes o animals transgènics, les larves d'insecte (Amitha Reena Gomes, 2016).

Les proteïnes senzilles de pes molecular per sota dels 50kDa i que no necessitin estar glicosilades per a la seva funció biològica, poden expressar-se en *E. coli*. La insulina és un bon exemple de proteïna expressada en una *E. coli* recombinant.

Les proteïnes més complexes formades per diverses cadenes, que tenen més de tres punts disulfur entre els seus cisteïnes, de pes molecular per sobre de 50 kDa i que necessiten glicosilació, hauran de ser expressades en sistemes més complexos, com són les cèl·lules eucariotes. Els anticossos terapèutics són un bon exemple.

Producció de proteïnes terapèutiques. Creació dels bancs cel·lulars

Un cop s'ha establert la proteïna terapèutica a produir, el primer pas és la selecció del vector i el sistema d'expressió. El ADN codificant per a la proteïna d'interès el podem obtenir mitjançant amplificació per PCR a

partir de cèl·lules o teixit que sabem que expressa aquesta proteïna. Com s'ha comentat abans, també es pot obtenir la seqüència de ADN d'interès per síntesi. És important en aquest punt optimitzar els codons per al sistema d'expressió que finalment va a utilitzar-se. L'elecció del vector i la seva optimització per aconseguir uns nivells d'expressió el més alts possibles, és un treball que realitzat al principi va a estalviar-nos problemes posteriors de manca de rendibilitat del sistema. En algunes ocasions la proteïna terapèutica va acompanyada d'una seqüència extra d'uns pocs aminoàcids per facilitar la detecció, així com la seva purificació posterior. Una de les cues més utilitzades és la de sis histidines.

Un cop construït el vector, aquest ha de introduir-se en la cèl·lula hoste qui finalment produirà la proteïna d'interès. La selecció dels clons productors és un procés molt fàcil si s'utilitzen bacteris com a sistema d'expressió. En el cas de cèl·lules de mamífer el procés de selecció i clonatge cel·lular pot suposar diversos mesos de treball. En aquest cas, no totes les cèl·lules recombinants tindran el mateix nivell d'expressió de la proteïna forana, per la qual cosa és molt important seleccionar els clons més productors.

Durant el desenvolupament, a part de l'optimització del vector, deu també optimitzar el sistema d'expressió (Sanjeev K.Gupta, 2016). Haurem també saber com i on s'expressa la nostra proteïna i esbossar els passos que seran necessaris per a purificar-. Si el sistema d'expressió és *E coli*, sovint el bacteri empaqueta les proteïnes foranes formant el que coneixem com a cossos d'inclusió. En aquests cossos, la proteïna normalment es troba desnaturalitzada, de manera que serà necessari un procés de solubilització i el replegament per arribar a tenir la proteïna biològicamente activa. En aquest moment haurà de definir també la qualitat que requerirà el producte, així com tots els controls que farem servir durant el procés i desenvolupar els mètodes analítics per a la seva caracterització.

A partir del moment en què tenim una línia productora estable optimitzada, s'ha de fer el primer banc cel·lular. Aquest constituirà el Research Cell Bank (RCB) i a partir d'aquí s'han de construir els bancs cel·lulars posteriors. La primera expansió de les cèl·lules productores la dedicarem al *Master Cell Bank* (MCB). Aquest banc màster ha de ser exhaustivament caracteritzat.

A partir de l'MCB s'estableix el banc de treball o Working Cell Bank (WCB). Els dos bancs cel·lulars, MCB i WCB, seran les factories de les proteïnes terapèutiques i han de ser creats sota la normativa de qualitat de les bones pràctiques de producció (GMP, *Good Manufacturing Practice*).

Manufactura i control de les proteïnes recombinants

La producció es fa sempre a partir del WCB. En un primer període pot realitzar-se una producció no GMP mentre s'estableix l'escalat i els mètodes analítics que compleixin els criteris de les guies (ICH Q6B). El procés de descongelació de l'alíquota del banc cel·lular, fins a l'obtenció del producte cru que conté la proteïna (pot ser un sobredensants o un sediment cel·lular) ens referirem a procés UP. La purificació de la proteïna recombinant a partir del cru, es designa procés DOWN. La purificació del que constituirà la proteïna terapèutica i la separació de la majoria de contaminants usats en el procés de producció, ha de quedar perfectament definit i caracteritzat. Els antibiòtics usats en la selecció, detergents usats en la solubilització, resines usades en la purificació, restes vírics que poden estar presents en els vectors, el ADN o proteïnes derivades de la cèl·lula hoste i un llistat important d'impureses han de ser quantificats i delimitats.

La producció de la proteïna recombinant, procés UP, pot arribar a fer servir bioreactors de grans volums, milers de litres. Actualment els recipients on es produeix la proteïna són d'un sol ús per poder facilitar la neteja del material de producció en producció i evitar contaminacions.

Per al procés Down, on s'haurà de purificar la proteïna i alliberar-la dels contaminants, es faran servir diferents fases cromatogràfiques, normalment tres, fins a tenir un fàrmac que compleixi amb els criteris de qualitat establerts durant el desenvolupament del procés.

Regulació

El procés de producció d'un biofàrmaco és tan complex que cada lot de producció ha de ser exhaustivament controlat i ha de complir els criteris

d'acceptació establerts per a cada un dels paràmetres analítics. Moltes vegades escoltarem que “el procés és el producte”. Així es defineix en la directiva de la Comissió Europea 2003/63 / EC.

En aquest punt del desenvolupament s'estudia l'estabilitat del producte i es comença la formulació del fàrmac en la seva forma final. L'estabilitat de la forma farmacèutica final i els paràmetres de qualitat, han de definir-se en aquest punt. Els estudis d'estabilitat han de seguir les normatives 3AB5A, CMPM / ICH / 138/95 ICH Topic 5QC (EMA, regulatory, 2018) (EMA, ICH, 2018).

Un cop establerta la forma farmacèutica final i la manifatura del producte, establerts els paràmetres de qualitat i demostrada una mínima estabilitat, amb tota aquesta informació pot redactar el dossier, Investigational Medicinal Product Dossier (IMPD), per poder sol·licitar els estudis clínics.

Per a l'entrada en els estudis clínics s'ha de fer la producció sota la norma de qualitat GMP. Així mateix s'han de complir els requisits reguladors per a la proteïna (EMA, drug substance, 2018) i per al producte final (EMA drug product, 2018).

Producció d'anticossos monoclonals

Els anticossos monoclonals són un percentatge important de les noves proteïnes terapèutiques. Si l'anticòs s'ha obtingut a partir de la tecnologia clàssica de hibridomas, l'anticòs murí es pot obtenir directament a partir del cultiu de l'hibridoma. Tot i que encara està en el mercat l'anticòs OKT3 (Hogquist, 2016), comercialitzat el 1985, usat per al rebuig agut, la major part dels anticossos terapèutics que surten actualment al mercat, tendeixen a ser anticossos modificats químèrics o fins i tot humans obtinguts a partir de la tecnologia del phage display. En aquest cas, les regions variables dels anticossos seran clonats en vectors apropiats per a la producció del isotip requerit. Els anticossos modificats seran expressats finalment en cèl·lules de mamífer, sent les més utilitzades les ja citades CHO.

Reducció de costos

La producció de proteïnes recombinants és un procés complex i car. La quantitat de proteïna que és capaç d'expressar el nostre sistema d'expressió, la factoria cel·lular seleccionada, serà clau perquè el procés sigui viable. L'escalat industrial cada vegada més tendeix a utilitzar contenidors d'un sol ús, que encara que són cars, optimitzen el procés de neteja i preparació de la zona de producció. Les cèl·lules eucariotes modificades per a la producció de proteïnes, han estat optimitzades per poder assolir una densitat de cultiu més gran, de manera que amb un mateix volum podem tenir més cèl·lules i conseqüentment més proteïna fabricada.

En un futur, quan es demostri la viabilitat i quedí regulat, els sistemes transgènics serà una font de proteïna a un cost molt menor que l'actual cultiu cel·lular i ús de bioreactors.

Bibliografia

- Amitha Reena Gomes, S. M. (2016). “An Overview of Heterologous Expression Host Systems for the Production of Recombinant Proteins”. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 346-356.
- EMA drug product. (2018). Recollit de <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines/biologicals/biologicals-finished-product>.
- EMA, drug substance. (2018). *Biologicals: active substance*. Recollit de <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines/biologicals/biologicals-active-substance>.
- EMA, ICH. (2018). Recollit de http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/Training/ASEAN_Q5C_workshop_May_2011/SESSION_Ia_ICH_Q5C.pdf.
- EMA, regulatory. (2018). Recollit de <https://www.ema.europa.eu/>

documents/scientific-guideline/quality-biotechnological-products-stability-testing-biotechnological/biological-products_en.pdf.

- Gerhard Hannig, S. C. (1998). “Strategies for optimizing heterologous protein expression in *Escherichia coli*”. *Trends in Biotechnology*, 54-60.
- Hogquist, K. A. (2016). OKT3 and H57-597: “From Discovery, to Commercialization, to the Clinic”. *J Immunol*, 3429-3430.
- Johnson, I. (1983). “Human insulin from recombinant ADN technology”. *Science* , 632-637.
- Khan, K. H. (2013). “Gene Expression in Mammalian Cells and its Applications”. *Adv Pharm Bull.*, 257-263.
- Rabinow, P. (1996). *Making PCR: A Story of Biotechnology*. University of Chicago Press.
- Sanjeev K.Gupta, P. S. (2016). “Review Article Advanced technologies for improved expression of recombinant proteins in bacteria”: perspectives and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1089-1098.
- Tian J, M. K. (2009). “Advancing high-throughput gene synthesis technology”. *Mol Biosyst*, 714-722.

2.2. Anticossos monoclonals

Antoni Iborra

Als anys 70, el descobriment de dues tecnologies van tenir una importància cabdal en el desenvolupament del que avui coneixem com a medicaments biotecnològics: l'enginyeria plasmídica (1) i la tecnologia de generació d'hibridomes secretors d'anticòs monoclonal (mAb) (2).

Quant a la tecnologia de generació d'hibridomes, el 1975 Köhler i Milstein (2) van establir un línia cel·lular de mieloma murí que, fusionada amb els esplenocits obtinguts de la melsa d'un ratolí immunitzat, van permetre l'obtenció d'una línia d'hibridomes secretors d'anticòs monoclonal (mAb). La línia de mieloma era mutant per un gen, l'hipoxantina-guanina fosforibosiltransferasa (HPGRT-), enzim indispensable per a la síntesi d'ADN. Köhler i Milstein van aprofitar aquesta deficiència com a marcador de selecció dels hibridomes. Si es produïa una fusió mieloma-esplenocit, l'hibridoma podia sobreviure en un medi hipoxantina-aminopterina-timidina (HAT), que bloqueja la síntesi de nucleòtids de novo. Mercès a la via de salvament proporcionada pels esplenocits, les cèl·lules de mieloma sense fusionar es perdien a causa de la seva incapacitat de produir nucleòtids, ja que l'aminopterina del HAT bloquejava la ruta de síntesi de purines i pirimidines, mentre que les cèl·lules B no fusionades només sobrevivien a curt termini (2-4).

Aquesta estratègia de fusionar les cèl·lules, seleccionar-les mitjançant la seva capacitat de sobreviure en medi HAT i la possibilitat de detectar la presència d'anticossos específics secretats pels hibridomes es va convertir en el fonament de la producció dels mAbs i, només deu anys més tard, va culminar amb l'aprovació de la FDA de la primera eina terapèutica basada en mAbs, l'anticòs monoclonal anti-CD3 anomenat muromonab-CD3 (OKT-3) per prevenir el rebuig agut de trasplantament renal (5).

Tot i que es preveia que la teràpia basada en mAbs podia ser una fita revolucionària en la medicina, la seva estrena va quedar lluny de les expectatives. L'origen 100% murí d'aquests anticossos monoclonals va portar un problema per dos motius: el reconeixement i activació del sistema complement humà(6) i el fet que els pacients desenvolupaven

anticossos contra els anticossos d'origen murí (HAMAs) (7), les quals coses comportaven l'eliminació ràpida dels anticossos monoclonals i la conseqüent pèrdua de funció terapèutica en els tractaments de llarga durada. Aquests anticossos monoclonals murins s'han emprat amb èxit en accions a curt termini, com el diagnòstic de tumors amb l'ús dels mAbs units a radioisòtops. Ateses les complicacions que pot causar en el pacient una resposta HAMA (7,8), la majoria dels anticossos murins generats ja no s'utilitzen com a eines terapèutiques. Actualment, només el muromonab-CD3 sense conjugar manté l'aprovació de la FDA (9).

Aquesta primera generació d'anticossos monoclonals va portar a una segona generació de mAbs que tenia per objectiu primordial disminuir-ne la immunogenicitat i fer-los més humans. Els representants d'aquesta segona generació són els anticossos químèrics i els anticossos humanitzats, obtinguts tots ells mercès a la combinació de l'enginyeria genètica i la tecnologia dels hibridomes. Els primers mAbs químèrics van ser descrits gairebé de manera simultània l'any 1984 (10,11) i, de nou, només deu anys després, la FDA va aprovar la primera eina terapèutica químèrica, l'abciximab, per a la prevenció perquirúrgica de trombosi per a intervencions d'artèria coronària (12). Actualment hi ha vuit químèrics no conjugats i un altre químèric biosimilar aprovats per la FDA per a l'aplicació clínica (9). Tot i que els anticossos monoclonals químèrics són aproximadament un 75 % humà en origen i presenten una menor immunogenicitat que els mAbs murins, l'administració continua generant una resposta d'anticossos humans vers l'anticòs terapèutic químèric (7,13).

Els nous coneixements aportats sobre la regió determinant de la complementarietat (de l'anglès Complementarity Determining Region, o CDR), seqüència curta d'aminoàcids que es troba en els dominis variables dels anticossos amb funció de receptor d'antígens, que complementa l'antigen i per tant en defineix l'especificitat per l'antigen en particular, van ser aplicats en els anticossos químèrics, la qual cosa va permetre d'obtenir un producte que mantenia l'especificitat de l'antigen reconegut, mercès al component murí, però que en origen era aproximadament un 95% humà; el primer anticòs humanitzat (14). Actualment, hi ha uns 20 mAbs humanitzats no conjugats aprovats per la FDA (9). Tot i l'avenç que han significat els mAbs humanitzats, encara no es descarta totalment una resposta anti-anticòs humanitzat (HAHAs). L'alt contin-

gut d'origen humà s'associa a una disminució de la immunogenicitat de l'agent terapèutic, però no es pot rebutjar que aparegui una resposta immunitària per la presència dels CDR d'origen murí (15).

L'objectiu de la tercera generació de mAbs terapèutics es va centrar en la producció d'anticossos 100% humans. En formen part els anticossos obtinguts mitjançant la tecnologia de *phage display* (16) aplicada als mAbs amb èxit per McCafferty l'any 1990,(17) la qual cosa va representar una revolució en l'enginyeria d'anticossos. L'any 2002, la FDA va aprovar el primer mAb totalment humà, l'adalimumab (18) per al tractament de diverses malalties autoimmunitàries i inflamatòries. Actualment hi ha uns disset anticossos humans no conjugats aprovats per a ús clínic (9).

Aquesta tercera generació de mAbs també engloba l'obtenció dels mAbs a partir de models animals transgènics, en els quals s'intenta silenciar els gens d'immunoglobulina endògena en ratolins i introduir els seus homòlegs humans amb l'objectiu d'humanitzar el sistema immunitari murí (19). Aquests models permeten la immunització dels ratolins humanitzats contra l'antigen d'interès i l'obtenció dels mAbs per a la tecnologia dels hibridomes. El 2006, la FDA va aprovar el primer anticòs totalment humà produït per la tecnologia transgènica, el panitumumab, receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR), desenvolupat mitjançant la plataforma XenoMouse (Abgenix/Amgen) (20).

Però fins i tot amb l'ús d'anticossos humans, s'hi observen respuestes de rebuig (21). Cal acceptar que, encara que la possibilitat d'aparició de reaccions adverses contra els mAbs terapèutics i els seus derivats pugui resultar poc probable, no s'aconsegueixi eliminar completament. Els últims mAbs terapèutics aprovats per la FDA, en general, són ben tolerats, i les baixes proporcions de risc de resposta en contrast amb el benefici terapèutic que comporten n'afavoreixen l'ús (21).

Els mAbs desenvolupats al llarg de les tres generacions s'han proposat com a eines eficaces per la seva capacitat d'unió específica a un antigen concret, i ha existit un objectiu addicional que tracta d'augmentar-ne les capacitats emprant modificacions químiques. Els primers mAbs van servir, units a radioisòtops capaços d'unir-se a cèl·lules o teixits específics, en el camp del diagnòstic de tumors. Aquests mAbs marcats permeten

detectar la mida i ubicació del tumor mitjançant una anàlisi de tomografia computada per emissió. Aquest mateix principi també ha proporcionat diferents agents quimioterapèutics específics de cèl·lules malignes basats en la conjugació de substàncies al mAb, que permeten minimitzar la citotoxicitat col-lateral al teixit sa (22). Actualment, al mercat hi ha dos conjugats d'anticossos (ADC, de l'anglès Antibody Drug Conjugate), el brentuximab vedotin, un mAb químèric contra el receptor CD30, i l'ado-trastuzumab emtansina, una versió modificada del mAb trastuzumab antireceptor HER2/neu. Mentre que el trastuzumab atura el creixement del tumor en el càncer de mama metastàtic HER2 positiu, l'ado-trastuzumab emtansina exerceix un efecte citotòxic addicional capaç d'inhibir el conjunt de microtúbuls (22). Avui dia hi ha nou mAbs modificats aprovats per la FDA (9).

Els diferents mAbs produïts per la tecnologia d'hibridomes, d'ADN recombinant, *phage display* o mitjançant la utilització de models animals transgènics, han obert la possibilitat de produir agents biològics per a moltes malalties, que inclouen malalties autoimmunitàries, càncers, trastorns de la sang, entre d'altres. Els seus mecanismes d'acció són diversos i múltiples. Això no obstant, els diferents mAbs es poden categoritzar en funció de cinc característiques: la seva citotoxicitat, la modulació de l'activació/interacció cel·lular, la prevenció del creixement i proliferació, la modulació de la immunitat senyalització i la neutralització d'agents estranys (9).

L'any 2017, la FDA tenia aprovat l'ús de 31 mAbs terapèutics i uns 250 mAbs estaven en diferents fases clíniques, pends d'aprovació. La importància dels mAbs en el camp dels medicaments biotecnològics queda palesa en el fet que només cinc d'aquests mAbs, infliximab (Remicade), rituximab (Rituxan), trastuzumab (Herceptin), bevazumab (Avastin) i adalimumab (Humira), van generar vendes per un valor superior a quatre mil milions de dòlars l'any 2008, i les vendes globals per al sector va superar els trenta mil milions de dòlars aquell mateix any (23,24). L'ús dels anticossos monoclonals en terapèutica és una realitat que caldrà consolidar en els propers anys amb nous reptes.

Bibliografia

- (1) Cohen SN., Chang AC., Boyer HW, Helling RB., 1973. “Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70 (11), 3240–3244.
- (2) Köhler G., Milstein C., 1975. “Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity”. *Nature*, 256 (5517), 495–497.
- (3) Köhler G., Milstein C., 1976. “Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion”. *Eur. J. Immunol.* 6 (7), 511–519.
- (4) Ribatti D., 2014. “From the discovery of monoclonal antibodies to their therapeutic application: an historical reappraisal”. *Immunol. Lett.* 161 (1), 96–99.
- (5) Brekke OH., Sandlie I., 2003. “Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century”. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2 (1), 52–62.
- (6) Bruhns P., 2012. “Properties of mouse and human IgG receptors and their contribution to disease models”. *Blood* 119 (24), 5640–5649.
- (7) Clark M., 2000. “Antibody humanization: a case of the ‘Emperor’s new clothes’?” *Immunol. Today* 21 (8), 397–402.
- (8) Hwang WY., Foote J., 2005. “Immunogenicity of engineered antibodies”. *Methods* 36 (1), 3–10.
- (9) Rodgers KR., Chou RC. 2016. “Therapeutic monoclonal antibodies and derivatives: Historical perspectives and future directions”. *Biotech Advances* 34, 1149-1158.
- (10) Morrison SL., Johnson MJ, Herzenberg LA., Oi VT., 1984. “Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81 (21), 6851–6855.

- (11) Boulianee GL., Hozumi N., Shulman MJ, 1984. “Production of functional chimaeric mouse/human antibody”. *Nature* 312 (5995), 643–646.
- (12) Lefkovits J., Topol EJ., 1995. “Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitors in ischemic heart disease”. *Curr. Opin. Cardiol.* 10 (4), 420–426.
- (13) Lee SJ., Chinen J., Kavanaugh A., 2010. “Immunomodulator therapy: monoclonal antibodies, fusion proteins, cytokines, and immunoglobulins”. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125 (2 Suppl 2), S314–S323.
- (14) Jones PT., Dear PH., Foote J., Neuberger MS., Winter G., 1986. “Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse”. *Nature* 321 (6069), 522–525.
- (15) Harding FA., Stickler MM., Razo J., DuBridge RB., 2010. “The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions”. *mAbs* 2 (3), 256–265.
- (16) Smith GP., 1985. “Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface”. *Science* 228 (4705), 1315–1317.
- (17) McCafferty J., Griffiths AD., Winter G., Chiswell DJ., 1990. “Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains”. *Nature* 348 (6301), 552–554.
- (18) Winter G., Griffiths AD., Hawkins RE., Hoogenboom HR., 1994. “Making antibodies by phage display technology”. *Annu. Rev. Immunol.* 12, 433–455.
- (19) Scott CT., 2007. “Mice with a human touch”. *Nat. Biotechnol.* 25 (10), 1075–1077.
- (20) Jakobovits A., Amado RG., Yang X., Roskos L., Schwab G., 2007. “From XenoMouse Technology to panitumumab, the first fully hu-

- man antibody product from transgenic mice”. *Nat. Biotechnol.* 25 (10), 1134–1143.
- (21) Hansel TT., Kropshofer H., Singer T., Mitchell JA., George AJ., 2010. “The safety and side effects of monoclonal antibodies”. *Nat. Revs. Drug Discov.* 9 (4), 325–338.
- (22) De Goeij BE., Lambert JM., 2016. “New developments for anti-body-drug conjugate-based therapeutic approaches”. *Curr. Opin. Immunol.* 40, 14–23.
- (23) Yamada T. “Therapeutic monoclonal antibodies”. *Keio J Med* 2011;37–46.
- (24) Meyer-Tamaki KB., 2017. *A comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development*. Second Edition 617-645. Academic Press, Michigan.

3. APLICACIONES TERAPÈUTIQUES. MEDICAMENTS BIOTECNOLÒGICS

Susana Clemente Bautista. Jose Bruno Montoro Ronsano.

La insulina humana va ser el primer medicament d'origen biotecnològic desenvolupat a començament dels vuitanta pel tractament de la diabetis mellitus insulinodependent. Des de llavors hem assistit al desenvolupament, entre altres, d'anticossos monoclonals, factors de creixement, vacunes, citoquines, molècules antisentit i altres proteïnes recombinants (1).

El desenvolupament de la biotecnologia ha permès identificar dianes terapèutiques molt concretes i dissenyar així, medicaments altament específics dirigits a aquestes dianes. El tractament quasi “a la carta” de certes malalties ha aconseguit assolir taxes de supervivència i increments en la qualitat de vida dels pacients, que fa uns anys no es podien imaginar. L'avanç terapèutic assolit es d'una gran dimensió, però, per una altre banda, l'ús de medicaments biotecnològics suposa un elevat impacte pressupostari per el sistema sanitari (1).

En dades de despesa farmacèutica global, el mercat farmacèutic representà al 2017 996.000 milions de dòlars, amb expectatives al 2018 de ultrapassar el bilió de dòlars. El primer mercat del mon va esser els Estats Units amb 453.000 milions de dòlars, i el tercer Europa, amb 214.000 milions de dòlars (2). En aquest context, els medicaments d'origen biotecnològics ocupen un lloc molt destacat. La Taula 1 presenta el llistat del 10 fàrmacs més importants en termes de vendes globals al 2017 (2). Dels deu productes, set son biotecnològics i el líder mundial de vendes (l'adalimumab, amb 18.427 milions de dòlars) és un d'ells. I en el cas de 2016, la presència de biotecnològics era encara més accentuada (3). D'altra banda, el fàrmac més car, expressat per cost en dòlars per mes de tractament, és l'interferò gamma, amb 53.321 dòlars/mes, també un biotecnològic (2). Val a dir, d'altra banda, que entre els deu fàrmacs més prescrits cap d'ells és un fàrmac biotecnològic.

Principals àrees terapèutiques

Els medicaments biotecnològics aprovats fins data d'avui tenen aplicacions terapèutiques en àrees tan diverses com pot ser el càncer, malalties autoimmunes i el tractament del rebuig en els trasplantaments.

Teràpia antineoplàsica

La teràpia antineoplàsica és l'àrea terapèutica on hi ha un major número de medicaments biotecnològics comercialitzats actualment. Això es deu a que s'han identificat nombrosos antígens que es sobreexpressen en les cèl·lules tumorals. A continuació es descriuen medicaments biotecnològics emprats en oncologia (1, 5-7) (Taula 2).

Teràpia per al tractament de malalties inflamatòries

Les malalties inflamatòries autoimmunes (artritis reumatoide, espondilitis anquilosant, psoriasis, Crohn, colitis ulcerosa, uveïtis, ...) comparteixen una inflamació crònica sistèmica. Per tant, són susceptibles de tractament amb medicaments biotecnològics amb dianes terapèutiques comunes:

- Citoquines proinflamatòries (TNF i diferents IL: 1,6,10,12,23)
- Limfòcits B (CD20).
- CTLA-4
- Integrines $\alpha 4\beta 7$

La majoria de medicaments biotecnològics (infliximab, adalimumab, etanercept, certolizumab, golimumab i tocilizumab) indicats per aquestes patologies inhibeixen el TNF- α . No obstant això, molts del nous medicaments es dirigeixen a noves dianes terapèutiques (1, 5-7) (Taula 3).

Teràpia de malalties lisosomals

Les malalties lisosomals (ML) són malalties minoritàries que es produeixen per un déficit d'enzims específics intralisosomals o del sistema de proteïnes transportadores, del nucli al citoplasma, encarregades de la hidròlisis àcida de macromolècules situades en l'interior dels lisosomes. Aquest defecte enzimàtic produceix un acúmul progressiu del substrat corresponent en diferents teixits, el que conduceix a una malaltia crònica i multiorgànica.

Durant els últims anys s'ha progressat molt en el tractament de les ma-

lalties lisosomals. Anteriorment no hi havien tractaments específics i el maneig consistia únicament en cures de suport i tractament de les complicacions. Des de que la teràpia de substitució enzimàtica es va introduir per pacients amb malaltia de Gaucher, s'ha considerat aquesta base, el tractament per altres malalties lisosomals (7) (Taula 4).

Teràpia d'altres malalties minoritàries

Les malalties rares, minoritàries o orfes són aquelles que tenen una prevalença de 5 casos per cada 10.000 habitants en la comunitat. Fins el moment s'han identificat unes 7.000 malalties rares, majoritàriament cròniques i sense possibilitat de curació. El 95% de les més de 7.000 malalties rares que existeixen no tenen cap tractament aprovat.

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) i el síndrome hemolític urèmic atípic (SHUa) presenten una activació crònica i incontrolada del sistema del complement amb conseqüències greus i potencialment mortals. Per una altre banda, Nusinersen és el primer medicament que s'autoritza pel tractament de l'atrofia muscular espinal 5q, una malaltia neuromuscular greu i progressiva, que condueix a la mort prematura en les formes més greus i amb una morbilitat molt rellevant en les formes que arriben a l'edat adulta. L'aparició d'aquest nous medicament biològics en el mercat ha millorat la qualitat i el pronòstic d'aquestes malalties (7) (Taula 5).

Teràpia per al trasplantament d'òrgans sòlids

El rebuig immunològic és la principal complicació del trasplantament. L'aparició de nous medicaments biològics en la profilaxi i el tractament del rebuig augmenta la supervivència de l'empelt. Per la profilaxi de trasplantament d'òrgans sòlids (TOS) es fa servir com a biològic, el basiliximab (s'uneix a l'antígen CD25 dels limfòcits T), encara que només té la indicació aprovada pel trasplantament de ronyó. Per una altre part, Alemtuzumab és un altre anticòs monoclonal que bloqueja el CD52 de la superfície de limfòcits T i B, el qual també ha estat utilitzat en algun centre com agent inductor per a la profilaxi. En quant el rebuig humoral de TOS, el tractament es basa en l'extracció de anticossos per immunoadsorció o per recanvis plasmàtics terapèutics conjuntament amb tractaments complementaris (amb gran variabilitat entre els diferents grups trasplantadors). Entre aquests tractaments complementaris hi ha una part important que són medicaments biològics: rituximab (CD20),

ofatumumab (CD20) i eculizumab (C5) (1, 5-7).

Teràpia de l'asma

Un percentatge important de pacients amb asma no estan controlats malgrat un tractament adequat. A l'actualitat s'estan desenvolupant teràpies biològiques, en particular anticossos monoclonals front a dianes selectives com alternativa al tractament convencional per asma greu no controlat. El tractament de l'asma greu al·lèrgica amb omalizumab (anticòs monoclonal anti-IgE) ha demostrat ser eficaç i segur en un nombre elevat de pacients. Nous anticossos anti-Ig E amb millors propietats farmacodinàmiques s'estan desenvolupant. Entre altres teràpies també tenim medicaments biòlogics dirigits al bloqueig de citoquines proinflamatòries com IL-5 (mepolizumab), IL-13 (lebrikizumab) i IL-4 i IL-13 (dupilumab). Aquestes dues darreres interleukines també estan implicades en altres malalties atòpiques. De fet, dupilumab té indicació només en dermatitis atòpica. Lebrikizumab està en fase d'investigació (Fase III) (1, 5-7).

Teràpia en budell curt

L'aparició de teduglutide en el mercat ha augmentat de manera considerable la qualitat de vida del pacient amb budell curt dependent de nutrició parenteral (NP) domiciliària de per vida. Teduglutide és un anàleg del pèptid-2 similar al glucagó (GLP-2) amb capacitat de restauració de la integritat funcional i estructural de l'intestí. Promou la reparació de la mucosa intestinal i disminueix el buidatge i la secreció gàstrica, i així mateix incrementa l'absorció de líquids i nutrients.

La majoria de pacients es beneficien d'una disminució del volum requerit de NP per setmana, de reducció de dies de NP a la setmana i inclús d'una retirada total de la NP. La limitació principal d'aquest tractament és el seu alt cost i que la seva duració és indefinida (7).

Teràpia en malalties infeccioses

En malalties infeccioses s'han desenvolupat medicaments biotecnològics per la profilaxi i tractament d'alguns patògens:

- Palivizumab per la prevenció del virus respiratori sincital (VRS). El VRS infecta aproximadament al 75% dels nens durant el primer any de vida i a prop del 100% al final del segon any. És un dels factors més

determinants en l'increment dels ingressos en els hospitals durant els mesos d'hivern, amb una mortalitat del 1 %. L'anticòs palivizumab es comercialitza amb la finalitat de prevenir la infecció pel virus VRS en lactants de risc.

- Raxibacumab per la prevenció i tractament de Bacillus antracis per via inhalada. És un anticòs monoclonal que s'uneix a l'antígen PA de la toxina de l'àntrax. Aquest medicament està comercialitzat als Estats Units.
- Interferó α (INF- α) 2A y el 2B pel tractament de la hepatitis B i C.
- Vacunes: en els últims anys s'ha progressat notablement en la identificació de gens i proteïnes dels patògens, el que ha suposat la possibilitat de dissenyar noves, millors i més selectives vacunes. Els objectius més importants que es persegueixen amb el desenvolupament de vacunes basades en proteïnes recombinants, en relació amb les vacunes de que ja disposavem, són que siguin més potents (por exemple la vacuna del carbuncle), més segures i millor caracteritzades (vacuna de la hepatitis B), o que tinguin un major espectre de protecció front a diversos serotipus d'una bactèria en concret (*Neisseria meningitidis* B), que siguin més fàcils d'administrar i que produixin menys reaccions adverses. Actualment s'estan desenvolupant investigacions en vacunes contra el virus del papiloma, la malària, el citomegalovirus, la shigella, l'herpes i la toxoplasmosi. També s'estan provant vacunes contra el virus de la immunodeficiència humana adquirida (VIH), el càlera, el dengue i diversos tipus de càncer. Al mateix temps, s'estan estudiant vies d'administració noves com la nasal.

Actualment es troben també en desenvolupament anticossos monoclonals per al tractament d'infeccions per altres tipus de virus com: hepatitis B, hepatitis C, *Staphylococcus aureus* i estafilococs coagulasa negatiu, metapneumovirus, papiloma humà, VIH i per toxines com l'enterotoxina B estafilocòcica (1, 5-7).

Teràpia cardiovascular

L'alirocumab i l'evolocumab són anticossos monoclonals que pertanyen a una nova mena d'hipolipemiant: els inhibidors de la proproteïna convertasa subtilisina/kexina tipus 9 (PCSK9). Pel seu novedós mecanisme d'acció, i per la seva capacitat per reduir nivells de c-LDL, s'han posicionat com un nou esglao dins de l'arsenal terapèutic de les dislipèmies.

Per altra banda, tenim l'abciximab, un dels primer anticossos comercialitzats al nostre país. Abciximab està dirigit contra el receptor de glicoproteïna (GP) IIb/IIIa localitzat a la superfície de les plaquetes humanes. L'abciximab inhibeix l'agregació plaquetària evitant la unió del fibrinògen, del factor Von Willebrand i d'altres molècules adhesives a les zones del receptor GPIIb/IIIa en les plaquetes activades. Està indicat com a tractament (associat a l'aspirina i l/heparina) de la intervenció coronària percutànea i l'angina inestable (1,5-7).

Teràpia amb anticoagulants

L'idarucizumab és un agent de reversió específic per a l'anticoagulant dabigatran. És un fragment d'anticòs monoclonal humanitzat que s'uneix al dabigatran amb una afinitat molt elevada; aproximadament 300 vegades més potent que l'afinitat d'unió de dabigatran a la trombina. Aquesta unió neutralitza el seu efecte anticoagulant. No reverteix, en canvi, els efectes anticoagulants dels inhibidors del factor X, com ara rivaroxaban, apixaban i edoxaban. Està indicat en adults tractats amb dabigatrán etexilat quan es necessita una reversió ràpida dels seus efectes anticoagulants.(7)

Teràpia a la degeneració macular

Els antiangiogènics han sigut la gran revolució en el tractament de la degeneració macular associada a l'edat (DMAE) que permet, per primer cop, canviar el curs natural de la malaltia aconseguint, en alguns casos, millorar la agudesa visual i mantenir-la en la majoria. El tractament més eficaç, en aquest moment, és la injecció intravítreu directa de preparats que actuen contra el factor de creixement endotelial vascular A (VEGF-A), que és un dels agents més importants involucrats en l'estímul angiogènic. Bevacizumab i Ranibizumab s'uneixen al VEGF-A i impideixen la unió amb els seus receptors a la superfície de les cèl·lules endotelials. Aflibercept a més d'inhibir el VEGF-A, inhibeix el VEGF-B i el factor de creixement plaquetari (PIGF). Bevacizumab no té la indicació aprovada per DMAE (7).

Teràpia de l'osteoporosi

El denosumab és dirigeix amb gran afinitat i especificitat al lligand del receptor activador pel factor nuclear α -B (RANKL), impedint l'activació del seu receptor, RANK, a la superfície dels precursores dels osteoclasts i en els osteoclasts. S'inhibeix la formació, la funció i la supervi-

vència dels osteoclasts, provocant la disminució de la resorció òssia en el'ós trabecular i cortical (7).

Teràpia de l'esclerosi múltiple

Actualment no es coneix cap tractament efectiu per a l'esclerosi múltiple (EM). Entre els medicaments biotecnològics comercialitzats per al tractament de l'EM tenim l'interferó beta 1a, l'interferó beta 1b, el peginterferó beta 1a i els anticossos monoclonals: alemtuzumab (anti CD52), natalizumab (anti- α 4-integrina) i el recentment comercialitzat, ocrelizumab (anti CD20) (1, 5-7).

Teràpia de l'hemofília

La Federació Mundial d'Hemofília (FMH) recomana emfàticament l'ús de concentrats derivats de plasma sotmesos a processos d' inactivació viral o concentrats recombinants en lloc de crioprecipitats o plasma fresc congelat pel tractament de la hemofilia i altres trastorns hereditaris de la coagulació.

Entre els factors recombinants (7):

- Factor VIIa recombinant.
- Factor VIII recombinants: octocog alfa, lonoctocog, moroctocog alfa, rurioctocog alfa pegol, efmoroctocog alfa, turoctocog alfa, simoctocog alfa.
- Factor IX recombinant: nonacog; albutrepenonacog (proteïna de fusió recombinant que uneix el factor IX de coagulació amb l'albúmina (rIX-FP); eftrenonacog alfa (proteïna de fusió recombinant que uneix el factor IX de coagulació recombinant humà amb el Fc (rFIXFc). Aquestes proteïnes de fusió ofereixen una vida mitja més gran respecte a la dels factors IX utilitzats fins ara.
- Factor XIII recombinant: catridecacog.

Taula 1. Llista dels primers deu fàrmacs prescrits a nivell global, en termes de despesa, per a l'any 2017 (de Linsley CW, 2018).

rank	product	generic name	company	sales (US \$BN)	% change vs 2016
1	Humira	adalimumab	AbbVie	18.427	+14.6
2	Rituxan	MabThera	Roche/ Biogen	9.238	+2.0
3	Revlimid	lenalidomide	Celgene	8.187	+17.4
4	Enbrel	etanercept	Amgen/ Pfizer	7.885	-11.1
5	Herceptin	trastuzumab	Roche	7.441	+3.4
6	Eliquis	apixaban	BMS/Pfizer	7.395	+46.3
7	Remicade	Infliximab	JNJ/Merck	7.152	-13.1
8	Avastin	bevacizumab	Roche	7.096	-1.4
9	Xarleto	Rivaroxaban	Bayer/JNJ	6.589	+11.3
10	Eylea	Aflibercept	Bayer/ regeneron	6.034	+9.4

Taula 2. Medicaments biotecnològics en oncologia, diana terapèutica i indicacions aprovades

Fàrmac	Diana terapèutica	Indicacions aprovades
Alemtuzumab	CD52	Leucèmia limfocítica crònica.
Atezolizumab	PDL1	Carcinoma uroelial. Càncer de pulmó no microcític.
Bevacizumab	VEGF	Carcinoma metastàsic de colon o recte. Càncer de mama metastàsic. Càncer de pulmó no microcític, no ressecable, metastàsic o recidivant. Càncer de cèl·lules renals.
Cetuximab	EGFR	Càncer colorrectal metastàtic. Càncer de cèl·lules escamoses de cap i coll.

Daratumomab	CD38	Mieloma múltiple.
Dinutuximab	gangliòsid GD2	Neuroblastoma d'alt risc en pacients de 12 mesos a 17 anys.
Durvalumab	PDL1	Càncer de pulmó no microcític en estat III irresecable (aprovat per FDA no EMA).
Elotuzumab	SLAMF7 (CD319)	Mieloma múltiple.
Gentuzumab ozogamicina	CD33	Leucèmia mieloide aguda CD33+
Ibrutumomab-tiuxetan	CD20	Limfoma fol·licular no tractats. Limfoma no Hodgkin (LNH) fol·licular de cèl·lules B CD20+ en recaiguda o refractari a rituximab.
Inolimumab	CD25	Malaltia empelt contra l'hoste.
Inotuzumab ozogamicina	CD22	Leucèmia linfoblástica aguda de preursors de limfòcits B positius per CD22 recidivant o refractària.
Ipilimumab	CTLA-4	Melanoma avançat
Necitumumab	EGFR	Càncer de pulmó no microcític escamós localment avançat o metastàtic.
Nivolumab	PD-1	Melanoma. Càncer de pulmó no microcític. Carcinoma de cèl·lules renals. Limfoma de Hodgkin clàssic. Càncer de cèl·lules escamoses de cap i coll. Carcinoma urotelial.
Obinutuzumab	CD20	Leucèmia linfàtica crònica. Limfoma fol·licular.
Ofatumumab	CD20	Leucèmia linfocítica crònica.
Olaratumab	PDGFR α	Sarcoma de teixits tous.

Panitumumab	EGFR	Càr沁oma colorrectal metastàsic amb RAS no mutat.
Pertuzumab	HER2	Càr沁er de mama metastàsic. Tractament neoadjuvant del càr沁er de mama.
Ramucirumab	Receptor 2 del VEGF	Càr沁er gàstric avançat o adenocarcinoma de la unió gastroesofàgica. Càr沁er colorectal metastàsic. Càr沁er de pulmó no microcític localment avançat o metastàsic.
Rituximab	CD20	Limfoma no-Hodgkin (LNH). Leucèmia limfàtica crònica.
Siltuximab	IL-6	Malaltia de Castleman.
Trastuzumab	HER2	Càr沁oma de mama HER2 positiu (metastàsic o precoç). Càr沁er gàstric metastàsic.
Trastuzumab-emtansina	HER2	Càr沁er de mama HER2 positiu localment avançat irreessecable o metastàsic.
Aldesleucina (IL-2)		Càr沁oma metastàsic de cèl·lules renals.
Interferó alfa (IFN-alfa)		Tricoleucèmia. Leucèmia mieloide crònica. Mieloma múltiple. Limfoma fol·licular. Tumor carcinoide. Melanoma maligne.

PDL1 (Receptor de mort programada lligand 1); TNF α (factor de necrosi tumoral alfa); EGFR (factor de creixement epidèrmic); CTLA-4 (antígen 4 del limfòcit T citotòxic); PD-1 (receptor de mort programada); PDGFR α (receptor- α del factor de creixement derivat de plaquetes); HER2 (receptor 2 de factor de creixement epidèrmic humà); receptor 2 del VEGF (factor de creixement endotelial vascular-2); IL (interleukina); FDA (Food and Drugs Administration); EMA (Agència Europea del Medicament).

Taula 3. Medicaments biotecnològics en patologies inflamatòries, diana terapèutica i indicacions aprovades

Fàrmac	Diana	Indicació
Etanercept	TNF- α	Artritis reumatoide. Artritis idiopàtica juvenil. Artritis psoriàsica. Psoriasis pediàtrica en plaques. Psoriasis en plaques. Espondilitis
Infliximab	TNF- α	Crohn en adults i nens. Colitis ulcerosa en adults i pediatria. Artritis psoriàsica. Psoriasis. Espondilitis anquilosant.
Adalimumab	TNF- α	Artritis reumatoide. Artritis idiopàtica juvenil. Espondiloartritis. Artritis psoriàsica. Crohn en adults i nens. Colitis ulcerosa. Psoriasis. Psoriasis pediàtrica en plaques. Uveitis adults i pediàtrica. Hidroadenitis supurativa adults i adolescents.
Golimumab	TNF- α	Artritis reumatoide. Colitis Ulcerosa. Espondiloartritis. Artritis psoriàsica.
Certolizumab pegol	TNF- α	Crohn adults (aprovat per FDA no EMA). Artritis reumatoide. Espondiloartritis. Artritis psoriàsica.
Vedolizumab	integrina $\alpha 4\beta 7$	Crohn. Colitis ulcerosa.
Tozilizumab	IL-6	Artritis reumatoide. Artritis idiopàtica juvenil.
Rituximab	CD20	Artritis reumatoide.
Ustekinumab	IL-12/23	Crohn. Psoriasis (aprovat per FDA però no EMA). Artritis psoriàsica (aprovat per FDA però no EMA).

Abatacept	CD80, CD86	Artritis reumatoide. Artritis psoriàsica. Artritis idiopàtica juvenil.
Anakinra	IL-1	Artritis reumatoide. Síndroms periòdics associats a criopirines. Malaltia d'Still.
Ixekizumab	IL-17A	Psoriasis en placa. Artritis psoriàsica.
Canakinumab	IL-1	Síndrome de febre periòdica. Síndromes periòdics associats a les criopirines. Síndrome periòdic associat al FNT. Síndrome de hiperimmunoglobulina D /deficiència de mevalonat quinasa. Febre mediterrània familiar. Malaltia d'Still. Gota artrítica.
Secukinumab	IL-17A	Psoriasis en plaques. Artritis psoriàsica. Espondilitis anquilosant.

Taula 4. Malalties lisosomals i fàrmac

Malaltia Lisosomal	Fàrmac
MPS-I (malaltia de Hurler, síndrome de Herler-Scheie, síndrome de Scheie)	Laronidasa
MPS-II (malaltia de Hunter)	Idursulfasa
MPS-IV (malaltia de Morquio)	Elosulfasa
MPS VI (malaltia de Maroteaux-Lamy)	Galsulfasa
Malaltia de Gaucher	Imiglucerasa, Velaglucerasa
Malaltia de Fabry	Agalsidasa α y Agalsidasa β
Malaltia de Pompe	Alglucosidasa
Dèficit de lipasa àcida liposomal (LAL)	Sebelipasa alfa

Taula 5. Fàrmac, diana terapèutica i indicació en malalties minoritàries

Fàrmac	Diana	Indicació
Eculizumab	Proteïna del complement C5	HPN SHUa Miastenia gravis generalitzada
Nusinersen	Oligonucleòtid antisentit que augmenta la proporció d'inclusió de l'exon 7 en els transcrits de l'àcid ribonucleic missatger (ARNm) del gen de supervivència de la neurona motora 2 (SMN2).	Atròfia muscular espinal 5q

Bibliografia

- (1) Jorge Enrique Machado-Alba. “Los medicamentos de origen biotecnológico, el futuro comienza ahora”. *An. Real Acad. Farm.* Vol. 80, N° 1 (2014): 49-90.
- (2) Urquart L. “Top drugs and companies by sales in 2017”. *Nat Rev Drug Discovery* 2018, 17: 232.
- (3) Linsdley CW. “New 2017 data and statistics for pharmaceutical products”. *ACS Chem Neurosci* 2018, 9: 1518-19.
- (4) Linsdley CW. “New 2016 data and statistics for global pharmaceutical products and projections through”. *ACS Chem Neurosci* 2017, 8: 1635-6.
- (5) <http://www.actip.org/products/monoclonal-antibodies-approved-by-the-ema-and-fda-for-therapeutic-use> (consultat: 3/07/18)
- (6) Anticuerpos monoclonales terapéuticos. Informe de vigilancia tecnológica. https://web.archive.org/web/20120621091802/http://www.gen-es.org/assets_db/publications/documents/pub_77_d.pdf (consultat: 3/07/18)
- (7) Consulta fitxes tècniques: <https://www.aemps.gob.es/cima/publico/home.html> (consultat: 3/7/18)

4. EFECTES ADVERSOS. FARMACOVIGILÀNCIA

Elena Gonzàlez. David Conde

4.1. Introducció

Els fàrmacs biotecnològics inclouen una gran varietat d'indicacions i dianes terapèutiques, de manera que fer-ne una valoració global de la seguretat és una tasca complexa. A diferència de les molècules petites, els fàrmacs biotecnològics solen ser catabolitzats i transformats en aminoàcids indistingibles dels endògens, que seran reciclats en forma de noves proteïnes o excretats. Per això, generalment, no hi ha producció de noves molècules o metabòlits tòxics que puguin interaccionar amb sistemes cel·lulars d'una forma no predicta (1). L'excepció serien els conjugats anticòs-fàrmac que tenen com a objectiu potenciar el transport intracel·lular del fàrmac covalentment unit a l'anticòs (p.ex: trastuzumab emtasina) (2). En general, són fàrmacs amb un bon perfil de seguretat, tot i que l'aparició d'alguns efectes advers greus i inesperats ha provocat que s'hagin emès alertes de seguretat (Taula 1). Tot i això, aquestes alertes són una minoria respecte del total d'alertes de seguretat que emeten les agències reguladores.

Els efectes adversos dels fàrmacs biotecnològics, igual que els fàrmacs de síntesi química, poden estar associats al seu mecanisme farmacològic o no. Així, entre aquells els adversos no relacionats amb l'acció farmacològica, trobem les reaccions d'hipersensibilitat i les reaccions relacionades amb la infusió. En el grup d'efectes adversos associats al mecanisme farmacològic destaquem aquells que estan relacionats amb la interacció del fàrmac amb la seva diana (1).

A causa de la gran varietat de fàrmacs que componen aquest grup, en aquest capítol s'han destacat els efectes adversos més importants des d'un punt de vista quantitatiu (no farmacològic), i així mateix els efectes associats al mecanisme que, per la seva rellevància i impacte, s'han considerat més importants. En un tercer grup s'han inclòs els efectes

adversos relacionats amb la immunoteràpia en oncologia, que ha comportat un canvi de paradigma en el tractament del càncer; la toxicitat diferencial mereix un nou apartat.

Taula 1. Notificacions de seguretat de l'Agència Espanyola del Medicament (AGEMED) en relació als fàrmacs biotecnològics.

Fàrmac	Lligand/ Diana	Any	Alerta de seguretat
Calcitonina	Osteoclasts	2013	Risc de tumors associat a tractaments perllongats (2013)
Epoetina- α	Eritropoetina	2002 2008	Aplàsia de cèl·lules vermelles (2002) Progressió tumoral (2008)
Interferons- β	IFN β -1a IFN β -1b	2014	Microangiopatia trombòtica i síndrome nefròtic (2014)
Natalizumab	Alfa-4-integrina	2016	Risc LMP (2016)
Aflibercept	VEGF-A, VEGF-B	2016	Osteonecrosi mandibular
Infliximab	TNF α	2014	Risc de reactivació VHB
Etanercept	TNF α	2014	Risc de reactivació VHB
Adalimumab	TNF α	2014	Risc de reactivació VHB
Golimumab	TNF α	2014	Risc de reactivació VHB
Certolizumab	TNF α	2014	Risc de reactivació VHB
Denosumab	RANKL	2014	Osteonecrosi mandibular i risc d'osteoporosi
Rituximab	CD-20	2014	Risc de reactivació VHB
Daclizumab	IL-2	2018	Reaccions immunes fatales a escala cerebral. Aquesta alerta va comportar-ne la retirada del mercat

4.2. Efectes adversos no relacionats amb el mecanisme farmacològic

4.2.1. Immunogenicitat

L'efecte advers més freqüent és l'aparició de reaccions d'hipersensibilitat (1). Els fàrmacs biotecnològics són grans proteïnes, complexes i heterogènies a causa de la seva producció mitjançant tecnologia genètica recombinant. Per aquest motiu, el sistema immunitari de l'hoste pot identificar aquests agents terapèutics com estranys i induir una resposta contra la proteïna (3,4).

La immunogenicitat pot tenir a veure amb un o més factors relacionats amb el producte (per exemple, línia cel·lular seleccionada, canvis post-traduccionals i alteracions de l'estructura 3D després del processament, impureses, material de condicionament); poden estar relacionats amb el tractament (per exemple, via d'administració, posologia), o bé amb el pacient o la malaltia (per exemple, antecedents genètics, medicaments concomitants, naturalesa de la malaltia subjacent i estat immunitari).

La immunogenicitat és una preocupació considerable, tant durant el desenvolupament dels fàrmacs biotecnològics com en l'aprovació i comercialització posteriors. La resposta immunològica sovint està associada amb l'aparició d'anticossos antifàrmac (ADA), que poden afectar negativament l'eficàcia i la seguretat de l'agent terapèutic. Tot i que l'experiència permet d'affirmar que en la majoria dels casos la seva aparició no té significació clínica, l'aparició d'ADAs s'ha associat amb reaccions al·lèrgiques o anafilàctiques greus, eficàcia reduïda i, rarament, la inducció d'autoimmunitat envers alguna proteïna endògena del pacient (3,4). Aquest últim supòsit es va descriure entre els anys 1998 i 2002, en detectar un augment brusc de casos d'aplàsia de cèl·lules vermelles en pacients tractats prèviament amb epoetina alfa als quals se'ls havia administrat una nova versió del mateix fàrmac (nova formulació del producte i via d'administració). Això va provocar que el 2002 s'emetés una alerta de seguretat. Es van detectar anticossos contra l'eritropoetina en 112 dels 136 casos en què es disposava de resultats analítics (5). Altres proteïnes terapèutiques, com el factor estimulant de colònies de granulòcits o l'hormona de creixement humana, també poden induir processos auto-

immunes. Per contra, els ADAs formats per l'administració d'anticossos monoclonals (per exemple, infliximab, adalimumab, rituximab) poden menar a la pèrdua o reducció de l'eficàcia i a reaccions infusionals, però no autoimmunes (4,6).

La regulació actual de l'EMA obliga que la immunogenicitat dels fàrmacs biotecnològics sigui investigada sempre prèviament a l'aprovació, utilitzant mètodes actualitzats i validats per mesurar-ne la incidència, titulacions, capacitat de neutralització i persistència dels anticossos anti-fàrmac (ADA), com de la seva correlació amb els resultats d'exposició, seguretat i eficàcia del medicament (7,8). Tot i l'estreta regulació que fa l'EMA de l'avaluació de la immunogenicitat i la seva evaluació en els estudis de fase 3, és important destacar que la determinació de la incidència real d'immunogenicitat en pacients es fa sobretot durant la fase de postautorització (3).

Pel que fa a l'avaluació de rutina de la presència d'ADAs, hi ha controvèrsia. Si bé les guies EULAR de tractament de l'artritis reumatoide no recomanen una evaluació de rutina de l'ADAs i dels nivells de fàrmac (9), diversos autors suggereixen que aquesta evaluació podria ajudar a comprendre els mecanismes subjacents a la resposta immune als biològics per identificar altres factors moduladors per reduir la immunogenicitat del fàrmac (4,10).

Una de les principals preocupacions actuals, amb l'arribada dels biosimilars, és l'efecte que un o més canvis entre el medicament de referència i el biosimilar pugui tenir en un mateix en relació a l'aparició d'ADAS i reaccions d'hipersensibilitat (11).

4.2.2. Reaccions relacionades amb la infusió

Molts agents antineoplàsics, incloent-hi agents citotòxics i biològics (sobretot anticossos monoclonals), tenen el potencial de causar reaccions relacionades amb la infusió (RRI) (12).

La majoria de les RRI són d'intensitat lleu a moderada i es desenvolupen durant la infusió o poc després, i poden manifestar-se a nivell cutani (eritema, rubor), cardiovascular (mal de pit, taquicàrdia, hipoten-

sió), respiratori (dispnea, sibilacions), gastrointestinal (nàusees, vòmits, diarrea) o neurològic (confusió, alteracions visuals).

No obstant això, un petit percentatge significatiu ($\leq 5\%$) de pacients tindrà reaccions greus a la infusió, incloses un inici agut de broncoespasme, hipotensió, urticària i / o aturada cardíaca.

L'explicació acceptada més àmpliament pel que fa al mecanisme de les RRI és l'alliberament de citocines inflamatoris per la unió de l'anticòs monoclonal a la cèl·lula diana. Quan s'allibera a la circulació perifèrica, les citocines provoquen una varietat de símptomes característics de la reaccions d'infusió (12,13).

Les reaccions a la infusió a anticossos monoclonals ocorren de manera predominant durant la primera infusió. No obstant això, el 10-30 % de les reaccions als anticossos monoclonals es retarden i es poden esdevenir en infusions posteriors (12,14,15).

Existeix certa confusió a l'hora d'utilitzar els termes RRI i *hipersensibilitat*. Perquè hi hagi hipersensibilitat cal una base immunològica, i moltes vegades les RRIs són classificades com "hipersensibilitats" de manera incorrecta (16). La National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) distingeix entre reaccions d'hipersensibilitat i reaccions agudes a la infusió induïdes per l'alliberament de citocines (Taula 2) (17).

Taula 2. Definicions per reaccions al·lèrgiques i reaccions relacionades amb la infusió segons el National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (17)

	1	2	3	4	5
Reacció al·lèrgica (reacció hipersensibilitat)	<ul style="list-style-type: none"> - Envermelliment transitori o granella-dada, febre medicamentosa < 38°C. - Intervació no indicada 	<ul style="list-style-type: none"> - Intervació o interrupció de la infusió indicada. - Respon a tractament simptomàtic (p. ex. antihistamítics, AINES, opioides). - Indicat medicaments profilàctics ≤ 24 horas 	<ul style="list-style-type: none"> - Perllongat (no respon a tractament simptomàtic ni a interrupció breu de la infusió); recurrència dels símptomes després d'una millora inicial. - Ingrés hospitalari indicat per seqüeles clíniques (p. ex., deteriorament renal, infiltracions pulmonars). 	<ul style="list-style-type: none"> - Conseqüències que comprometen la vida. - Intervació urgent indicada. 	Mort
Reacció relacionada amb la infusió	<ul style="list-style-type: none"> - Reacció transitòria lleu. - Interrupció de la infusió no indicada. - Intervació no indicada. 	<ul style="list-style-type: none"> - Interrupció de la infusió o teràpia indicada però respon a tractament simptomàtic (p. ex. antihistamítics, AINES, opioides, fluidoteràpia IV); - Indicat medicaments profilàctics ≤ 24 hores 	<ul style="list-style-type: none"> - Perllongat (no respon a tractament simptomàtic ni a interrupció breu de la infusió); recurrència dels símptomes després d'una millora inicial; - Ingrés hospitalari indicat per seqüeles clíniques. 	<ul style="list-style-type: none"> - Conseqüències que comprometen la vida. - Intervació urgente indicada. 	Mort

1. La reacció al·lèrgica (hipersensibilitat) es defineix com “un trastorn caracteritzat per una reacció adversa local o resposta general de l’exposició a un al·lergogen”.
2. La reacció relacionada amb la infusió es defineix com “un trastorn caracteritzat per reacció adversa a l’infusió de substàncies farmacològiques o biològiques”.
3. Els signes i símptomes clínics associats amb els dos tipus de reacció se superposen.

El grau d’humanització de l’anticòs influeix en el risc d’RRI d’un anticòs monoclonal. Els anticossos de ratolí i químics provoquen la més alta freqüència de respostes immunogèniques, mentre que els anticossos totalment humanitzats tenen comparativament una immunogenicitat relativament baixa (18).

Per prevenir les reaccions relacionades amb la infusió, es recomana la profilaxi amb antihistamítics, corticosteroides o tots dos, com també l’estricta monitorització durant i immediatament després de totes les infusions (14,19).

4.3. Efectes adversos relacionats amb l’efecte farmacològic

4.3.1. Infeccions greus

La introducció dels anticossos monoclonals en el tractament de les malalties immunomediates ha millorat molt la qualitat de vida dels pacients amb afeccions reumatològiques, psoriasis i malaltia inflamatòria intestinal. A més de les reaccions relacionades amb la infusió, els efectes adversos greus que es descriuen amb més freqüència són les infeccions greus (20). S’observen taxes d’infecció greu entre 3,8 - 6,4 esdeveniments per cada 100 pacients i any, en malalts tractats amb anti-TNFs (incloent-hi etanercept i infliximab) (21-25).

D’altra banda, aquests tractaments s’han relacionat amb la reactivació d’algunes infeccions latents, com la tuberculosi (TBC) i l’hepatitis B (VHB).

Diversos estudis han demostrat que el tractament preventiu amb isoniazida durant nou mesos redueix la probabilitat de progressió de la tuberculosi activa en pacients tractats amb immunosupressors biotecnològics i infecció tuberculosa latent. Per això és obligatori detectar la infecció tuberculosa latent i tractar-la, ja que així es redueix el risc de progressió (26).

En pacients amb infecció crònica (portadors inactius) o infecció passada per VHB, el tractament citotòxic o immunosupressor pot provocar una reactivació de la infecció viral (27,28). De fet, la mort d'un pacient sotmès a tractament amb rituximab a Espanya l'any 2014 va comportar una notificació de seguretat específica de l'AEMPS. La reactivació de VHB es deu a un augment de la replicació del virus en pacients portadors inactius o amb infeccions prèvies. Encara que pot ocórrer en qualsevol moment del tractament, és freqüent que s'esdevingui al final pel fenomen de reconstitució immunològica. Pot cursar d'una forma asimptomàtica a una hepatitis fulminant (29). Per això, les agències reguladores i així mateix les organitzacions científiques d'estudi de les malalties hepàtiques (AEEH i EASL) recomanen fer el cribatge de VHB abans d'iniciar la teràpia antineoplásica o immunosupressora i iniciar un tractament profilàctic en cas necessari (29,30).

Un altre dels efectes associats a la forta acció immunosupressora d'alguns d'aquests fàrmacs és el risc de desenvolupar leucoencefalopatia multifocal progressiva (LMP). L'ús de natalizumab, un anticòs monoclonal anti- α 4-integrina indicat en el tractament de l'esclerosi múltiple s'ha associat a un increment del risc de desenvolupar LMP. Es tracta d'una malaltia desmielinitzant causada per un virus oportunista, el virus John Cunningham (vírus JC), que sol estar present en la població general. És un mal rar però greu, que pot arribar a provocar la mort o una gran discapacitat del pacient. Per això, l'EMA ha establert una sèrie de recomanacions per minimitzar el risc de LMP (31). El risc de contraure LMP també s'ha descrit amb altres immunosupressors biològics, sobretot amb rituximab (32,33).

4.3.2. Cardiotoxicitat

Actualment, es comercialitzen quatre agents antineoplàsics, indicats per al tractament del càncer de mama, entre altres, que es dirigeixen a

HER2: trastuzumab, pertuzumab, lapatinib i el conjugat anticòs-fàrmac trastuzumab emtansine.(TDM-1) El trastuzumab és ben conegut per causar miocardiopatia, amb reducció de la fracció d'ejecció del ventricle esquerre.(34) La incidència global descrita de disfunció cardíaca va ser del 22 % en la branca de trastuzumab més quimioteràpia, en comparació amb només el 5 % de la quimioteràpia sola, i el 16 % dels pacients van desenvolupar insuficiència cardíaca classe III o IV segons la classificació de la New York Heart Association (NYHA). La cardiotoxicitat va ser més pronunciada en el grup que va rebre quimioteràpia amb antraciclina concomitant amb trastuzumab. El mecanisme de toxicitat cardíaca per trastuzumab és desconegut, però es creu que és una conseqüència de la disruptió de la senyalització cardíaca d'ErbB. La via de trasducció del senyal de l'HER2 és essencial per a la supervivència del miòcit durant els períodes d'estrès cardíac, atès que l'activació d'aquesta via de trasducció inhibeix l'apoptosi i manté la funció del miòcit (35).

La vascularització dels tumors és una part essencial de l'oncogènesi, per la qual cosa s'han desenvolupat diversos agents dirigits contra l'angiogènesi. El bevacizumab és un anticòs monoclonal per el VEGF, indicat en càncer colorectal, càncer de pulmó no microcític, càncer d'ovari i gliomes. En un estudi de fase 3 es va identificar insuficiència cardíaca induïda per aquest anticòs en el 2,2 % dels pacients (36).

La incidència d'hipertensió induïda per bevacizumab en un estudi recent va ser del 19,6 % (7,0 % greu). Es creu que la hipertensió és una seqüela de la inhibició de VEGF que provoca una manca de resposta a la sobrecàrrega de pressió (37).

S'han descrit altres efectes cardiotòxics, inclosa la prevenció de la regeneració endotelial, que comporta que s'alliberi el factor tissular activat, la qual cosa pot menar a episodis trombòtics (38,39).

4.4. Immunoteràpia

La immunoteràpia antitumoral comporta un nou paradigma de tractament del càncer, ja que el curs natural de la malaltia oncohematològica en tumors fins ara amb poques alternatives i un pobre pronòstic ha canviat. Consisteix a potenciar la resposta immunitària debilitada del pacient.

ent contra els tumors (immunoteràpia activa) o administrar anticossos o limfòcits específics (immunoteràpia passiva).

Entre les estratègies d'immunitat activa trobem la vacunació amb antígens tumorals i el bloqueig de les vies inhibidores del limfòcit T, entre d'altres. En el cas de la immunoteràpia passiva per als tumors, cal destacar la transferència cel·lular adoptiva amb limfòcits T que expressen receptors quimèrics per a l'antigen (CAR, *chimeric antigen receptor*) i el tractament amb anticossos antitumorals.

Aquestes teràpies tenen un perfil de toxicitat diferent de la resta, i encara que la majoria tenen efectes lleus, puntualment poden ser greus o fins i tot fatals (40,41). Per entendre la toxicitat associada als ICI (Inhibidors Control Inmunitari) cal tenir en compte la importància dels punts de control immunitari que aquests anticossos bloquegen.

Els principals grups dins dels inhibidors del punt de control immunitari (ICIs) són els inhibidors de l'antigen 4 associat al limfòcit T citotòxic (CTLA-4), els inhibidors del receptor de mort cel·lular programada 1 (PD-1) i els inhibidors del lligand L-1 del PD-1 (PD-L1).

Els estudis mostren un augment del risc de desenvolupar efectes adversos relacionats amb el sistema immunològic (irAEs), els més freqüents dels quals són els mucocutanis, els gastrointestinals i els endocrins. La majoria són conseqüències adverses lleus, però el desenvolupament d'irAEs greus en un percentatge significatiu obliga a fer-ne un reconeixement i una actuació ràpides.

Hi ha una clara diferència en els perfils de toxicitat dels ICIs respecte de la quimioteràpia. Segons els resultats d'una metaanàlisi recent:

- Els inhibidors de PD-1 / PD-L1 tenen menor incidència d'EAs graus 3-5 (G3-5) que el tractament amb inhibidors de CTLA-4 o quimioteràpia.
- La mort tòxica és menor en el cas de la monoteràpia amb un inhibidor de PD-1 / PD-L1 comparat amb el tractament amb un inhibidor de CTLA-4 o amb la quimioteràpia, i així mateix el percentatge de discontinuació del tractament.

En el cas que es combini un inhibidor de CTLA-4 amb un inhibidor de PD-1 / PD-L1 o amb quimioteràpia, el risc de suspensió del tractament per toxicitat, com també d'aparició d'EA G3-5, augmenta considerablement (42).

La decisió de reprendre la teràpia amb un ICI un cop resolta la toxicitat depèn de la resposta al tractament. Així, si un pacient aconsegueix una resposta objectiva al tractament abans de la suspensió per EAs, és possible que aquesta resposta sigui duradora i que no calgui reprendre la teràpia per evitar el risc de recurrència de la toxicitat. Per contra, els pacients que encara no han respost o ho han fet de manera inadequada, pot ser raonable reprendre el tractament un cop resolta la toxicitat (43).

Entre els irAEs secundaris més freqüents (30-50 % de pacients afectats) i precoços, hi ha els cutanis com *rash* (el més freqüent), pruïja i vitiligen. La majoria són autolimitats i s'hi pot fer front amb esteroides tòpics (44). Rarament poden ser motiu per suspendre el tractament.

També es poden presentar efectes adversos que afectin el sistema endocrí, els més freqüents dels quals són la hipofisitis (9 %) i la disfunció tiroïdal (15 %). La disfunció tiroïdal primària amb els ICIs es manifesta com una tiroïditis amb presència o sense d'anticossos antitiroïdals. Sol ser lleu. Amb la combinació ipilimumab-nivolumab, n'augmenta la incidència, que pot arribar fins al 9-15 %. La incidència d'hipotiroïdisme és més alta; varia segons els estudis entre 1,6 - 8,9 %, mentre que la de l'hipertiroïdisme oscil·la entre 0,4 - 3,5 % (45).

Un altre dels irAEs més freqüents són els gastrointestinals. El més comú és la diarrea, seguida de la colitis. Amb el tractament amb un anti-CTLA-4, la incidència de colitis varia entre el 8% i el 27%, i la de diarrea 54%. Amb anti-PD1 / PD-L1, la incidència de diarrea és menor ($\leq 19\%$). La colitis s'assembla a la malaltia inflamatòria intestinal. La freqüència d'hepatitis és menor (2-10 %) i amb la combinació augmenta al 25-30 % (15% grau 3) (43,46).

Els EA musculoesquelètics com l'artritis i les síndromes similars a la polimiàlgia són comuns durant el tractament amb ICIs (40% dels pacients). Aparentment són més habituals amb els anti-PD-1 / PD-L1 i també amb la combinació de tots dos. El tractament seria altes dosis de

corticosteroides. De vegades són necessaris fàrmacs modificadors de la malaltia (FAME) sintètics o biològics (43,47).

Els EA observats amb la teràpia cel·lular adoptiva amb cèl·lules T (CART) modificades genèticament poden englobar-se en dues categories:

- Toxicitat en la diana (*on-target toxicity*) deguda a l'expressió de l'antigen diana en els teixits normals. Per exemple, depleció de cèl·lules B normals després de l'administració de cèl·lules CART antiCD-19.
- Toxicitat fora de la diana (*off-target toxicity*) que afecta òrgans i teixits que no expressen l'antigen diana. Després de la transferència de cèl·lules T adoptives es produeix un augment de nivells de citocines inflamatòries, la qual cosa és causa de toxicitat sistèmica, com la síndrome d'alliberament de citocines (41).

Les toxicitats associades a la transferència de cèl·lules CART són les mateixes de les teràpies amb cèl·lules amb TCR modificats.

Els EA més comuns associats a la teràpia amb cèl·lules CART són la síndrome d'alliberament de citocines (SLC) i la neurotoxicitat, que es manifesta com una encefalitis. També pot aparèixer la síndrome de lisi tumoral i reaccions anafilàctiques.(48) La síndrome d'alliberament de citocines és deguda a l'activació d'un considerable nombre de cèl·lules immunes que induceixin l'alliberament massiu de citocines interferó- γ (IFN γ), factor de necrosi tumoral α (TNF α) i IL-6, interleucines 2 i 10 (IL2 i IL-10). Entre els pacients amb alt risc de SLC greu hi ha aquells que tenen una major càrrega tumoral i amb comorbiditats. Els símptomes són febre, fatiga, nàusees, hipotensió, hipòxia, anorèxia, taquicàrdia, síndrome de fugida capil·lar, destret respiratori i alteracions neurològiques. Solen ser autolimitats i reversibles, però pot haver-hi casos greus que inclouen una fallada multiorgànica.

La primera opció de tractament són antagonistes d'IL-6 com el tocilizumab (aprovat per la FDA per al tractament del SLC).(48)

La neurotoxicitat, anomenada síndrome d'encefalopatia relacionada amb cèl·lules CART (CRES, en les sigles en anglès), és la segona conseqüència adversa més comuna. Cursa amb un quadre típic d'encefalitis

tòxica amb símptomes com deliri, confusió, afàsia i, en casos severs, convulsions i coma.

La neurotoxicitat, majoritàriament, és reversible. En casos greus, és necessari l'ús de corticoides i antagonistes d'IL-6. Els corticoides són útils perquè travessen la BHE (Barrera Hemato Encefàlica), cosa que no fa el tocilizumab. El tocilizumab i la dexametasona són efectius per controlar la febre i la hipotensió durant el SLC, però no està clar si la resolució de la neurotoxicitat és per aquestes intervencions o per la història natural de les cèl·lules CART (proliferació, contracció, quiescència) (48).

4.5 Farmacovigilància

Des del 2011, tots els fàrmacs biotecnològics aprovats tenen un seguiment addicional de la seguretat (49).

La marca amb un triangle negre indica que són medicaments prioritaris en la notificació de reaccions adverses. Per això es requereix que pacients i professionals sanitaris comuniquin qualsevol sospita d'efectes negatius.

L'any 2016, l'Agència Europea de Medicaments (EMA) va publicar una guia de bones pràctiques en farmacovigilància (*Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP)*), específica per a fàrmacs biotecnològics, per millorar la supervisió i gestió de la seguretat d'aquests medicaments (50). Aquesta regulació especial és fonamentada per una major complexitat dels processos de fabricació.

Pel que fa a la immunogenicitat, és important destacar que els estudis de fase 3 n'estimen la incidència únicament quan el fàrmac té una immunogenicitat relativament elevada, si s'inclou el suficient nombre de pacients i si la resposta immunològica es desenvolupa durant la durada de l'estudi (3). Si els assaigs clínics tenen un nombre limitat de pacients, pot ser difícil treure'n conclusions (50). Tots els fàrmacs nous autoritzats després del 2012, incloent-hi els biosimilars, han de tenir un pla de gestió de riscos (PGR). En el cas concret dels fàrmacs biotecnològics, si es produeix una modificació significativa del procés de fabricació, també s'ha de reflectir en un PGR.

Un altre dels aspectes importants és la farmacovigilància del compliment dels controls d’emmagatzematge i manipulació, cadena de fred i bones pràctiques de distribució. No adherir-se a aquests processos pot afectar l’estabilitat i la qualitat dels productes i augmentar el risc de contaminació o immunogenicitat. Per això és fonamental garantir-ne la traçabilitat contínua mitjançant el registre del nom comercial, lot i caducitat. D’aquesta manera es pot reproduir el recorregut complet de cada unitat de medicament durant tot el procés, incloent-hi les condicions de conservació des de l’origen fins a l’administració al pacient (50). Així, l’EMA determina que, en la informació relativa a cada fàrmac biològic (fitxa tècnica, material informatiu), cal registrar el nom comercial, lot i caducitat en la història clínica del pacient.

Un dels principals problemes amb què ens enfrontem és la manca d’informatització en tots els punts de registre, cosa que en garantiria la traçabilitat, sobretot a escala hospitalària. La majoria d’hospitals no disposa de sistemes de lectura automàtics, de manera que és necessari fer un registre manual de tota la informació. És fonamental l’aposta de les institucions sanitàries per implantar eines que permetin l’automatització d’aquest procés.

Bibliografia

- (1) Clarke JB. *Adverse Drug Reactions* 2010; 196. doi:10.1007/978-3-642-00663-0.
- (2) EMA. *Kadcyla Summary of Product Characteristics* 2018:1–43.
- (3) Brinks V, Jiskoot W, Schellekens H. “Immunogenicity of therapeutic proteins: The use of animal models”. *Pharm Res* 2011;28:2379–85. doi:10.1007/s11095-011-0523-5.
- (4) Deehan M, Garcês S, Kramer D, Baker MP, Rat D, Roettger Y, et al. “Managing unwanted immunogenicity of biologicals”. *Autoimmun Rev* 2015;14:569–74. doi:10.1016/j.autrev.2015.02.007.
- (5) Agencia española del medicamento y productos sanitarios (AEMPS). *Nota de seguridad: Epoetina Alfa: Contraindicación de*

la administración por cía subcutánea en pacientes con insuficiencia renal crónica. 2002.

- (6) Strand V, Balsa A, Al-Saleh J, Barile-Fabris L, Horiuchi T, Takeuchi T, et al. “Immunogenicity of Biologics in Chronic Inflammatory Diseases: A Systematic Review”. *BioDrugs* 2017;31:299–316. doi:10.1007/s40259-017-0231-8.
- (7) EMA. “Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use . Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use. Table of contents”. *EMA Guidel* 2012;44:1–10. doi:EMA/CHMP/BMWP/86289/2010.
- (8) Agency EM. *Guideline on Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. Strategy* 2015;44:1–23. doi:EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev. 1.
- (9) Smolen JS, Landewé R, Bijlsma J, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M, et al. “EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update”. *Ann Rheum Dis* 2017;76:960–77. doi:10.1136/annrheumdis-2016-210715.
- (10) Ruiz-Argüello MB, Maguregui A, Ruiz Del Agua A, Pascual-Salcedo D, Martínez-Feito A, Jurado T, et al. “Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars”. *Ann Rheum Dis* 2016;75:1693–6. doi:10.1136/annrheumdis-2015-208684.
- (11) Cohen HP, Blauvelt A, Rifkin RM, Danese S, Gokhale SB, Woollett G. “Switching Reference Medicines to Biosimilars: A Systematic Literature Review of Clinical Outcomes”. *Drugs* 2018;78:463–78. doi:10.1007/s40265-018-0881-y.
- (12) Chung CH. *Managing Premedications and the Risk for Reactions to Infusional Monoclonal Antibody Therapy*. *Oncologist* 2008;13:725–32. doi:10.1634/theoncologist.2008-0012.
- (13) Brennan PJ, Bouza TR, Hsu FI, Sloane DE, Castells MC. “Hypersensitivity reactions to mAbs: 105 desensitizations in 23 patients, from evaluation to treatment”. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1259–

66. doi:10.1016/j.jaci.2009.09.009.

- (14) Lenz H-J. “Management and Preparedness for Infusion and Hypersensitivity Reactions”. *Oncologist* 2007;12:601–9. doi:10.1634/theoncologist.12-5-601.
- (15) Galvão VR, Castells MC. “Hypersensitivity to Biological Agents—Updated Diagnosis, Management, and Treatment”. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015;3:175–85. doi:10.1016/j.jaip.2014.12.006.
- (16) Baldo B. “Adverse events to monoclonal antibodies used for cancer therapy: Focus on hypersensitivity responses”. *Oncoimmunology* 2013;2:e26333.
- (17) “No Title”. *Common Terminol Criteria Advers Events v40 2009*. http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf (accessed June 10, 2016).
- (18) Thompson LM, Eckmann K, Boster BL, Hess KR, Michaud LB, Esteva FJ, et al. “Incidence, Risk Factors, and Management of Infusion-Related Reactions in Breast Cancer Patients Receiving Trastuzumab”. *Oncologist* 2014;19:228–34. doi:10.1634/theoncologist.2013-0286.
- (19) Moreau P, Van De Donk NWCJ, Miguel JS, Lokhorst H, Nahm H, Ben-Yehuda D, et al. “Practical Considerations for the Use of Daratumumab, a Novel CD38 Monoclonal Antibody, in Myeloma”. *Drugs* 2016;76:853–67. doi:10.1007/s40265-016-0573-4.
- (20) Burmester GR, Panaccione R, Gordon KB, McIlraith MJ, Lacerda APM. “Adalimumab: Long-term safety in 23 458 patients from global clinical trials in rheumatoid arthritis, juvenile idiopathic arthritis, ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, psoriasis and Crohn’s disease”. *Ann Rheum Dis* 2013;72:517–24. doi:10.1136/annrheumdis-2011-201244.
- (21) Galloway JB, Hyrich KL, Mercer LK, Dixon WG, Fu B, Ustianowski AP, et al. “Anti-TNF therapy is associated with an increased risk of serious infections in patients with rheumatoid arthritis especially in the first 6 months of treatment: updated results from the British Society for Rheumatology Biologics Register with special emphasis on risks in the elderly”. *Rheumatology* 2011;50:124–

31. doi:10.1093/rheumatology/keq242.
- (22) Curtis JR, Jain A, Askling J, Bridges L, Carmona L, Finckh A, et al. “A Comparison of patient characteristics and outcomes in selected european and U.S. rheumatoid arthritis registries”. *Semin Arthritis Rheum* 2011;40:2–14. doi:10.1016/j.semarthrit.2010.03.003.A.
- (23) Carmona L, Descalzo MA, Perez-Pampin E, Ruiz-Montesinos D, Erra A, Cobo T, et al. “All-cause and cause-specific mortality in rheumatoid arthritis are not greater than expected when treated with tumour necrosis factor antagonists”. *Ann Rheum Dis* 2007;66:880–5. doi:10.1136/ard.2006.067660.
- (24) Listing J, Strangfeld A, Kary S, Rau R, Von Hinueber U, Stoyanova-Scholz M, et al. “Infections in patients with rheumatoid arthritis treated with biologic agents”. *Arthritis Rheum* 2005;52:3403–12. doi:10.1002/art.21386.
- (25) Askling J, Fored CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Feltelius N, et al. “Time-dependent increase in risk of hospitalisation with infection among Swedish RA patients treated with TNF antagonists”. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1339–44. doi:10.1136/ard.2006.062760.
- (26) Mir Viladrich I, Daudén Tello E, Solano-López G, López Longo FJ, Taxonera Samso C, Sánchez Martínez P, et al. “Documento de consenso sobre la prevención y el tratamiento de la tuberculosis en pacientes candidatos a tratamiento biológico”. *Arch Bronconeumol* 2016;52:36–45. doi:10.1016/j.arbres.2015.04.016.
- (27) Shouval D, Shibolet O. “Immunosuppression and HBV reactivation”. *Semin Liver Dis* 2013;33:167–77. doi:10.1055/s-0033-1345722.
- (28) Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. “Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma”. *Int J Hematol* 2009;90:13–23. doi:10.1007/s12185-009-0359-5.
- (29) AEMPS. *Nota informativa AEMPS. Reactivación de la Hepatitis V secundaria a tratamiento inmunosupresor.* 2012;7:1–4.
- (30) European Association for the Study of the Liver (EASL). “EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepati-

- tis B virus infection”. *J Hepatol* 2017;67:370–98. doi:10.1016/j.jhep.2017.03.021.
- (31) European Medicines Agency. *EMA. Recomendaciones para minimizar el riesgo de LMP con Tysabri* 2016;44:1–5.
- (32) Clifford DB, Ances B, Costello C, Rosen-Schmidt S, Anderson M, Parks D, et al. “Rituximab-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in Rheumatoid Arthritis”. *Arch Neurol* 2011;68:1156–64. doi:10.1001/archneurol.2011.103.Rituximab-Associated.
- (33) Molloy ES, Calabrese LH. “Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: Evolving role of biologic therapies”. *Arthritis Rheum* 2012;64:3043–51. doi:10.1002/art.34468.
- (34) Cardinale D, Colombo A, Torrisi R, Sandri MT, Civelli M, Salvatici M, et al. “Trastuzumab-induced cardiotoxicity: Clinical and prognostic implications of troponin I evaluation”. *J Clin Oncol* 2010;28:3910–6. doi:10.1200/JCO.2009.27.3615.
- (35) Crone SA, Zhao YY, Fan L, Gu Y, Minamisawa S, Liu Y, et al. “ErbB2 is essential in the prevention of dilated cardiomyopathy”. *Nat Med* 2002;8:459–65. doi:10.1038/nm0502-459.
- (36) Choueiri TK, Mayer EL, Je Y, Rosenberg JE, Nguyen PL, Azzi GR, et al. “Congestive heart failure risk in patients with breast cancer treated with bevacizumab”. *J Clin Oncol* 2011;29:632–8. doi:10.1200/JCO.2010.31.9129.
- (37) Scappaticci FA, Skillings JR, Holden SN, Gerber H-P, Miller K, Kabbinavar F, et al. “Arterial Thromboembolic Events in Patients with Metastatic Carcinoma Treated with Chemotherapy and Bevacizumab”. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2007;99:1232–9. doi:10.1093/jnci/djm086.
- (38) Sugrue MM, Yi J, Purdie D, Dong W, Grothey A, Kozloff M. “Serious arterial thromboembolic events (sATE) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with bevacizumab (BV): Results from the BRiTE registry”. *J Clin Oncol* 2007;25:4136. doi:10.1200/jco.2007.25.18_suppl.4136.

- (39) Khakoo AY, Yeh ETH. "Therapy Insight: Management of cardiovascular disease in patients with cancer and cardiac complications of cancer therapy". *Nat Clin Pract Oncol* 2008;5:655–67. doi:10.1038/ncponc1225.
- (40) Wang DY, Okoye GD, Neilan TG, Johnson DB, Moslehi JJ. "Cardiovascular Toxicities Associated with Cancer Immunotherapies". *Curr Cardiol Rep* 2017;19. doi:10.1007/s11886-017-0835-0.
- (41) Abul K. Abbas, Andrew H. H. Lichtman SP. *Inmunología celular y molecular 8a edición*. n.d.
- (42) Man J, Ritchie G, Links M, Lord S, Lee CK. "Treatment-related toxicities of immune checkpoint inhibitors in advanced cancers: A meta-analysis". *Asia Pac J Clin Oncol* 2018;1–12. doi:10.1111/ajco.12838.
- (43) Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, Atkins MB, Brassil KJ, Caterino JM, et al. "Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline". *J Clin Oncol* 2018;36:1714–68. doi:10.1200/JCO.2017.77.6385.
- (44) Collins LK, Chapman MS, Carter JB, Samie FH. "Cutaneous adverse effects of the immune checkpoint inhibitors". *Curr Probl Cancer* 2017;41:125–8. doi:10.1016/j.currproblcancer.2016.12.001.
- (45) Torino F, Corsello SM, Salvatori R. "Endocrinological side-effects of immune checkpoint inhibitors". *Curr Opin Oncol* 2016;28:278–87. doi:10.1097/CCO.0000000000000293.
- (46) Kumar V, Chaudhary N, Garg M, Floudas CS, Soni P, Chandra AB. "Current diagnosis and management of immune related adverse events (irAEs) induced by immune checkpoint inhibitor therapy". *Front Pharmacol* 2017;8. doi:10.3389/fphar.2017.00049.
- (47) C. CL, Kristina GA, O. BC, A. SA. "Rheumatic and Musculoskeletal Immune-Related Adverse Events Due to Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review of the Literature". *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2016;69:1751–63. doi:doi:10.1002/acr.23177.
- (48) Badieyan ZS, Hoseini SS. "Adverse Effects Associated with Clin-

- cal Applications of CAR Engineered T Cells”. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2018;0:1–6. doi:10.1007/s00005-018-0507-9.
- (49) Agencia española del medicamento y productos sanitarios (AEMPS). *Medicamentos sometidos a seguimiento adicional de su seguridad*. AEMPS 2012:6–8.
- (50) Medicines Agency E. *Guidelines on good pharmacovigilance practices (GVP) Introductory cover note, last updated with considerations P.II on biological medicinal products finalised post-public consultation* 2016;44:1–6.

5. MEDICAMENTS BIOSIMILARS

Regina Múzquiz

5.1 Introducció

El procés de descobriment, investigació i desenvolupament d'una molècula amb finalitats terapèutiques és un complex i costós camí que no sempre assoleix l'objectiu que persegueix. Per això, els productes farmacèutics estan protegits per patents, la durada és de 20 anys. Aproximadament la meitat d'aquests anys es consumeixen durant les etapes preclíniques i clíniques del desenvolupament del producte, abans que aquest arribi al mercat. Els *certificats complementaris de protecció* garanteixen fins a cinc anys més de protecció addicional de la patent. També es genera una protecció suplementària anomenada *exclusivitat de dades* durant un període determinat, el que evita que, durant aquest, les autoritats reguladores de medicaments puguin acceptar una sol·licitud de registre d'un genèric o d'un biosimilar.

Aquest sistema de protecció pretén que les companyies farmacèutiques recuperin la inversió realitzada, única forma de fer atractiva la R + D + I en el sector del medicament.

D'aquesta manera, quan el medicament original perd l'exclusivitat, altres laboratoris poden copiar la molècula. En el cas de les molècules obtingudes per síntesi química es poden generar productes idèntics anomenats genèrics. En el cas de les molècules obtingudes a través d'un procés biològic o biotecnològic el producte final no pot ser mai idèntic a l'original, per la seva pròpia naturalesa i, en conseqüència, no es diu *biogenèric* sinó biosimilar (1).

Segons l'Agència Europea del Medicament (EMA, en les siglas en anglès) *un biosimilar* és un medicament *biològic que conté una versió del principi actiu d'un producte biològic original o producte de referència la patent del qual ha expirat i davant del qual demostra biosimilitud.*

Aquesta demostració es realitza a través d'un exhaustiu exercici de comparabilitat que conclou que les lleus diferències fisicoquímiques i biològiques entre ambdues molècules no afecten la qualitat, eficàcia i seguretat, el que en última instància permet la seva autorització per part de la Comissió Europea (CE). És important ressenyar que el terme biosimilar té un caràcter regulatori i s'utilitza en la Unió Europea (UE) per evidenciar la similitud entre el biològic de referència i el biosimilar.

Com ja s'ha apuntat, els medicaments biosimilars no són genèrics. Cal ressaltar les diferències entre ambdós tipus de medicaments, ja que d'elles es deriven les diferències en els requeriments regulatoris als quals són sotmesos tots dos per part de les agències reguladores.

Un genèric (2) és una substància de síntesi química que es pot caracteritzar de forma completa, per la qual cosa és possible garantir que el principi actiu que conté un medicament genèric és idèntic al del medicament original. Això no passa amb els medicaments biològics en general, i amb els biotecnològics en particular. Els medicaments biotecnològics són substàncies complexes, de grans dimensions i subjectes a una variabilitat fisicoquímica inherent a tot procés de producció en el qual participen éssers vius. Per això, els medicaments biosimilars són versions altament similars del principi actiu del producte de referència, les quals poden presentar petites diferències amb el medicament original que han de ser caracteritzades. Aquesta variabilitat fisicoquímica és inherent als productes de naturalesa biològica, i apareix de fet en qualsevol medicament biològic, ja sigui aquest original o biosimilar.

A la taula 1 es poden observar les diferències entre els dos tipus de productes en el que es refereix als requeriments d'estudis preclínics i clínics, nombre de pacients implicats en ells i inversió econòmica aproximada necessària per a la seva posada al mercat. Així mateix, cal destacar la diferència del temps estimat que triguen a completar el seu desenvolupament.

		Genérico	Biosimilar
Procedimiento de obtención		Síntesis química	Fuente biológica
Estructura molecular		Sencilla. Idéntica al producto de referencia	Compleja. Similar al producto de referencia
Desarrollo	Coste	0,6-4 millones de \$	100-300 millones de \$
	Tiempo	2-3 años	6-7 años
Ensayos preclínicos		No requeridos	Extensa caracterización fisicoquímica y biológica
Estudios clínicos		Estudios de bioequivalencia en voluntarios sanos	Comparativa farmacocinética y estudios de Fase III
Pacientes (muestra)		> 12	≈ 500

Taula 1. Diferències entre genèrics i biosimilars. Font: BioSim

		Genèric	Biosimilar
Procediment d'obtenció		Síntesi química	Font biològica
Estructura molecular		Senzilla. Idèntica al producto de referència	Complexa. Similar al producto de referència.
Desenvolupament	Cost	0,6-4 milions de \$	100-300 millions de \$
	Temps	2-3 anys	6-7 anys
Assajos preclínics		No cal	Extensa caractrització fisicoquímica i biològica
Estudis clítics		Estudis de bioequivalència en voluntaris sans	Comparativa farmacocinètica i estudis de fase III
Pacients (mostra)		> 12	Aprox. 500

Així, atès que els medicaments genèrics són molt més senzills de fabricar, es requereix un menor pressupost i temps de desenvolupament en comparació amb els biosimilars, a més d'una menor quantitat d'assajos preclínics i clínics, i amb un nombre de pacients considerablement menor.

5.2 Autorització de medicaments biosimilars a Europa

En l'àmbit de la UE, tots els medicaments, qualsevol que sigui la seva naturalesa, química o biològica, han d'obtenir l'autorització de l'agència d'avaluació corresponent, ja sigui l'EMA a Europa o les agències nacionals de cada país, l'Agència Espanyola de Medicaments i Productes Sanitaris, AEMPS, en el cas d'Espanya.

Respecte a la via regulatòria, hi ha quatre vies d'autorització o de registre: centralitzada, descentralitzada, de reconeixement mutu i nacional. En el cas dels medicaments biosimilars d'origen biotecnològic, aquests han d'autoritzar-se sempre per la via centralitzada^a és a dir, un únic expedient de registre presentat a l'EMA que és avaluat pel Comitè de Medicaments d'ús Humà (CHMP) del qual formen part els representants de les agències nacionals. Quan el CHMP emet una opinió favorable, la CE serà l'encarregada d'autoritzar la comercialització del fàrmac, quedant aquest autoritzat en tot l'Espai Econòmic Europeu (EEE). En el cas d'altres medicaments biosimilars (no biotecnològics) es poden aprovar per qualsevol de les quatre vies existents: centralitzada, de reconeixement mutu, descentralitzada o nacional, segons els interessos particulars de cada laboratori en cada estat membre. És important ressaltar que catorze dels quinze principis actius per als quals existeixen medicaments biosimilars autoritzats a la UE són d'origen biotecnològic, a excepció de les heparines de baix pes molecular que no requereixen de biotecnologia per a la seva producció.

a.- El procediment centralitzat és obligatori en els casos següents: i) medicaments d'ús humà que contenen una substància activa nova per al tractament de: virus d'immunodeficiència humana (VIH) o síndrome d'immunodeficiència adquirida (SIDA); càncer; diabetis; malalties neurodegeneratives; malalties autoimmunes i altres disfuncions immunes; malalties víriques; ii) medicaments derivats de processos biotecnològics, com enginyeria genètica; iii) medicaments de teràpia avançada, com a teràpia gènica, teràpia cel·lular somàtica o medicaments obtinguts mitjançant enginyeria tissular; iv) medicaments orfes (per a malalties rares); v) medicaments veterinaris usats per potenciar el creixement o la producció. Directiva 2004/27 / CE del Parlament Europeu i del Consell, de 31 de març de 2004 que modifica la Directiva 2001/83 / CE per la qual s'estableix un codi comunitari sobre medicaments d'ús humà.

Per tot això, podem afirmar que els medicaments biosimilars tenen les mateixes garanties de qualitat, seguretat i eficàcia que els medicaments de referència, sent els experts avaluadors els mateixos que avaluen els fàrmacs originals amb els mateixos rigorosos criteris en els dos casos.

El primer medicament biosimilar que es va aprovar a la UE va ser l'hormona de creixement de tecnologia recombinant, somatotropina, fa ja més de deu anys, el 2006. Actualment a data de juliol de 2018, la CE ha autoritzat ja un total de 43 fàrmacs biosimilars corresponents a 15 principis actius. (Figura I) (3).



Figura 1. Biosimilars a Europa i Espanya. Font: BioSim

És important ressaltar que així com els medicaments biològics originals tenen que aportar dades suficients que justifiquin un balanç risc-benefici favorable en cadascuna de les indicacions clíniques per a les que prenenen obtenir l'aprovació, per als medicaments biosimilars, que no prenenen ser més que una versió extraordinàriament semblant el seu producte de referència, ja es disposa d'aquesta informació que al seu dia va ser necessària per autoritzar cadascuna de les indicacions del producte de referència.

Per tant, del que es tracta ara és de seguir demostrant que el biosimilar i el producte de referència es comporten de manera tan semblant quan s'administren a éssers humans, que les dades que es van obtenir per al medicament de referència són aplicables també al medicament biosimilar.

Per això per a l'avaluació i autorització de medicaments biosimilars per les Agències Reguladores cal, com ja s'ha comentat anteriorment, un exercici de comparació exhaustiu que es fa per etapes: (1)

- **Comparabilitat fisicoquímica:** Es fan assajos fisicoquímics mitjançant tècniques analítiques per demostrar la comparabilitat estructural entre els dos.
- **Comparabilitat de l'activitat biològica:** Es fan assajos preclínics, que inclouen estudis *in vitro*, *ex vivo* i, quan s'estimen necessaris, *in vivo*^b, per comparar l'activitat biològica del medicament de referència i el biosimilar en una bateria de bioassaigs que permeten caracteritzar les funcions biològiques més rellevants per a la seva acció terapèutica i la seva toxicitat (p. ex. unió a receptors o a les seves dianes biològiques, transducció de senyals biològics, viabilitat cel·lular).
- **Comparabilitat clínica:** Es valora la comparabilitat en el comportament farmacocinètic i farmacodinàmic del medicament de referència i del medicament biosimilar en éssers humans. La comparabilitat clínica ha de començar, com en el cas dels genèrics, per la comparabilitat farmacocinètica, és a dir, pels estudis de bioequivalència. En el substancial, els estudis de bioequivalència amb medicaments biosimilars no difereixen dels que estem acostumats a veure per les molècules de síntesi química. L'objectiu és demostrar que la biodisponibilitat del medicament biosimilar és igual que la del medicament de referència.

En general, s'ha de fer algun estudi comparatiu d'eficàcia i seguretat en pacients que confirmi que el comportament clínic de tots dos medicaments és comparable, és a dir es realitzen assajos clínics. Per a això es tria el disseny d'assaig per a la indicació més sensible a fi de tenir la

b.- *in vitro*: es refereix a una tècnica per realitzar un determinat experiment en un tub d'assaig, o generalment en un ambient controlat fora d'un organisme viu.

in vivo: es refereix al procediment diagnòstic o experiment que es realitza en l'organisme mentre viu.

ex vivo: es refereix al procediment diagnòstic o experiment que es realitza en teixits o cèl·lules vives, que han estat extretes de l'organisme, però que es mantenen活es en un mitjà controlat.

màxima capacitat de trobar diferències si les hagués, disseny que no és necessàriament el mateix que va utilitzar l'original per demostrar l'eficàcia clínica.

La idea subjacent a aquest desenvolupament per etapes és que les petites diferències que es puguin detectar entre el medicament de referència i el biosimilar no tindran un impacte significatiu en el resultat terapèutic final en cadascuna de les indicacions per a les quals ha estat aprovat. Cal destacar que l'exercici de comparabilitat es fa tant en el desenvolupament de medicaments biosimilars com de medicaments biològics originals quan aquests darrers pateixen modificacions en els processos de producció.

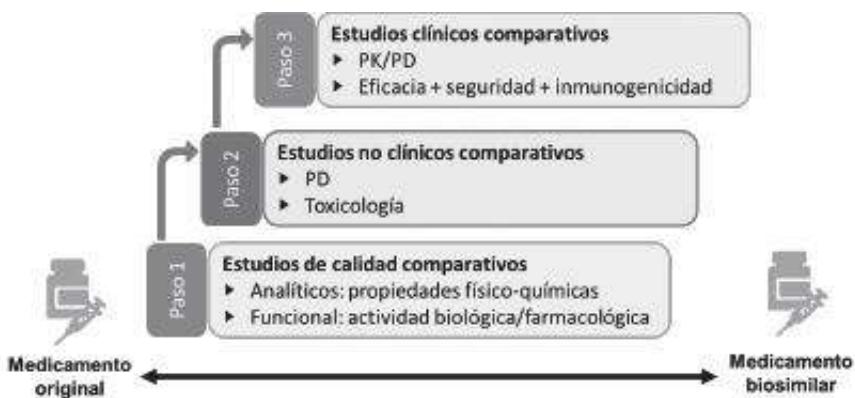


Figura 2. Etapes d'exercici de comparació entre el medicament de referència i el biosimilar. Font: BioSim.

5.3 Farmacovigilància

El 2010 i el 2012, la UE va adoptar noves directives i regulacions per les quals es modificaven els requisits en matèria de farmacovigilància, Directiva 2010/84/UE(4) i Directiva 2012/26/UE,(5) ja incorporades a la legislació espanyola pel Reial Decret 577/2013, de 26 de juliol,(6) pel qual es regula la farmacovigilància de medicaments d'ús humà. Amb aquesta nova normativa, sorgeixen nous requisits com: seguiment addicional, triangle negre i Pla de Gestió de Riscos.

El concepte de **seguiment addicional** s'aplica a “(...) *tots els medicaments que continguin nous principis actius, i medicaments biològics, inclosos biosimilars.*”



“Este medicamento está sujeto a seguimiento adicional”

Segons això, tot nou medicament autoritzat després de l’1 de gener del 2011 i subjecte a un seguiment addicional ha d’incloure el símbol negre en el prospecte i en el resum de les característiques del producte quan es comercialitzi a la UE.

L’avaluació postcomercialització dels biosimilars, per tant, és idèntica a la de qualsevol altre medicament biològic, i té com a objectiu poder detectar canvis en el balanç risc / benefici i controlar la seguretat i la immunogenicitat dels medicaments.

Un altre dels nous requisits que van derivar d’aquesta actualització de la normativa europea en matèria de farmacovigilància va ser la inclusió d’un **Pla de Gestió de Riscos** (PGR) “(...) per a cada medicament per al qual se sol·liciti autorització de comercialització a partir de l’entrada en vigor d’aquest reial decret”, que va ser el 27 de juliol del 2013.

El PGR té com a objectiu determinar el perfil de seguretat del medicament identificant els riscos al costat de la proposta d’una sèrie de mesures perquè sigui possible minimitzar-los. Aquest requisit s’aplicaria, així mateix, a qualsevol medicament aprovat després d’aquesta data.

5.4. Ús Racional de Medicaments biosimilars

En un context com l’actual, l’ús racional dels medicaments és un imperatiu ètic per als metges, un imperatiu que forma part del seu compromís social; un imperatiu que no té caràcter absolut i que ha de tenir en compte les circumstàncies concretes de cada pacient, de manera que l’objectiu general (racionalització de costos) no menyscabe la qualitat de l’atenció mèdica.

a. Prescripció

Els medicaments biosimilars han de ser prescrits per marca comercial,

obligació que deriva de la directiva comunitària Directiva d'Execució 2012/52/UE de la Comissió de 20 de desembre de 2012,(7) per la qual s'estableixen mesures per a facilitar el reconeixement de les receptes mèdiques expedides en un altre Estat membre, el preàmbul diu textualment:

“Per això s’ha d’indicar la denominació comuna dels medicaments, a fi de facilitar la identificació correcta dels que es comercialitzen amb marques diferents en diferents estats membres i dels que no es comercialitzen en tots. S’ha d’utilitzar la denominació comuna internacional recomanada per l’Organització Mundial de la Salut o, si no, la denominació comuna habitual. La marca comercial d’un medicament només ha de servir per a la identificació inequívoca dels medicaments biològics, tal com es defineixen en l’Annex I, Punt 3.2.1.I., Lletra b), de la Directiva 2001/83 / CE del Parlament Europeu i del Consell, de 6 novembre 2001, per la qual s’estableix un codi.”

b. Dispensació

A Espanya actualment, la majoria dels medicaments biosimilars es dispensen a través de la farmàcia hospitalària, bé per a pacients ingressats, per a pacients d’hospital de dia o per a pacients ambulatoris. Actualment només es dispensen a la farmàcia comunitària els medicaments on el principi actiu és la insulina glargina, l’hormona fol·liculostimulant i pròximament l’enoxaparina.

c. Intercanviabilitat

Per als professionals de la salut és important conèixer la terminologia actual de la Comissió Europea sobre intercanviabilitat, *switching* i substitució en el context dels medicaments biosimilars (8).

Intercanviabilitat: Es refereix a la possibilitat d’intercanviar un medicament per un altre que s’espera que obtingui el mateix efecte clínic. Aquest intercanvi pot realitzar-se entre un producte de referència i un biosimilar (o viceversa) o entre dos biosimilars. En funció d’en qui radiqui la decisió del canvi, podem parlar de:

- **Canvi en la prescripció (Canvi o Switching):** quan el metge prescriptor decideix canviar un medicament per un altre amb la mateixa intenció clínica.

- **Canvi en la dispensació (Substitució automàtica):** pràctica de dispensar un medicament en lloc d'un altre equivalent i intercanviable a nivell de farmàcia sense consultar al responsable de la seva prescripció.

Figura 3. Competències de la EMA i dels estats membres sobre intercanvi. Font: BioSim.



Quan l'EMA du a terme l'avaluació científica d'un medicament biosimilar no emet recomanacions sobre si el biosimilar és intercanviable pel seu producte de referència, i per això, la CE no estableix si el producte de referència es pot canviar (pràctica mèdica) o substituir (pràctica farmacèutica) pel biosimilar, sinó que aquestes decisions es prenen a nivell nacional per part de cada Estat membre.

En l'àmbit de la UE, no hi ha una posició comuna entre els estats membres sobre la intercanviabilitat entre medicament original i biosimilar. En canvi, algunes autoritats reguladores nacionals com són les agències d'avaluació de medicaments d'Holanda, Finlàndia, Escòcia i Irlanda o l'Institut Paul Ehrlich a Alemanya, ja han pres posicions nacionals per donar suport a la intercanviabilitat de biosimilars sota la supervisió del metge prescriptor (9).

Pel que fa a Espanya la intercanviabilitat de biosimilars no està regulada i per això, aquesta pràctica s'ha convertit en un tema de debat.

Els organismes reguladors, en aprovar un biosimilar, asseguren que aquest i el medicament de referència demostren biosimilitud en el seu comportament farmacocinètic i presenten un perfil comparable d'eficàcia i seguretat. És a dir, les possibles diferències que puguin existir entre ells no són significatives en termes de seguretat, eficàcia o qualitat. En el procés d'avaluació s'exigeix que el rang de diferència que s'espera d'un

biosimilar respecte a l'original sigui el mateix que s'esperaria entre els diferents lots del producte de referència.

El *switching* és una pràctica clínica que es realitza de forma freqüent pels metges amb tota mena de fàrmacs i es basa en l'experiència d'ús i en el criteri del facultatiu.

En aquest sentit, les societats científiques han anat emetent els seus posicionaments i actualitzacions d'aquests, en els quals en general s'insta que el canvi d'un medicament per un altre no sigui en cap cas automàtic, respectant així el principi de lliure prescripció del metge i el de consentiment informat del pacient.

A Espanya, d'acord amb l'article 89 del Reial Decret Legislatiu 1/2015, de 24 de juliol, pel qual s'aprova el text refós de la Llei de garanties i ús racional dels medicaments i productes sanitaris,(10) els medicaments biològics no poden ser substituïts pel farmacèutic en l'acte de la dispensació. Aquest article està inclòs en el Capítol IV de l'ús racional de medicaments a l'oficina de farmàcia, el que fa inequívoca la prohibició en aquest àmbit.

5.5. Eficiència

Segons l'Organització Mundial de la Salut (OMS) i la conferència de Nairobi de 1985, l'Ús Racional de Medicaments consisteix que:

“Els pacients reben la medicació adequada a les seves necessitats clíiques, en les dosis corresponents als seus requisits individuals, durant un període de temps adequat i al menor cost possible per a ells i per a la comunitat.”

En aquest sentit, els medicaments biosimilars contribueixen a millorar l'eficiència en la utilització de recursos del Sistema Nacional de Salut (SNS).

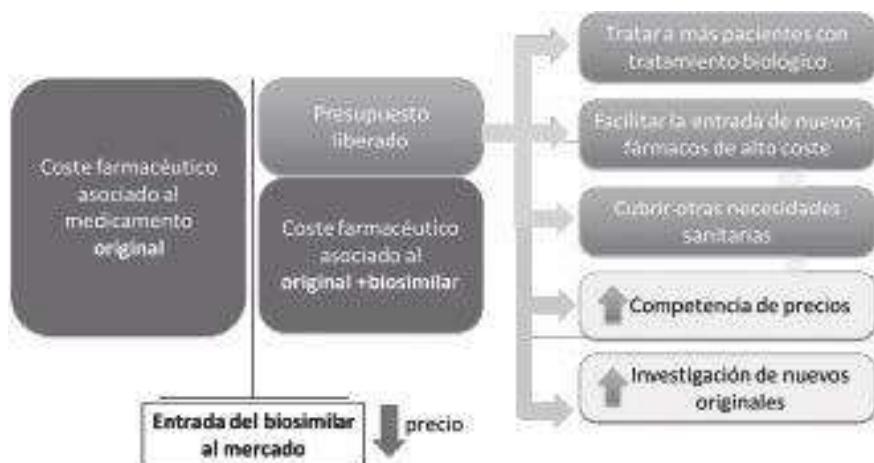


Figura 4. Eficiencia de la entrada al mercado de biosimilares. Fuente: BioSim

Com es pot observar a la Figura 4, l'entrada dels biosimilars al mercat té com a conseqüència una reducció del preu de l'esmentat principi actiu mitjançant dues vies. Una, perquè al biosimilar se li atorga un menor preu inicial de comercialització i una altra, perquè el Sistema de Preus de Referència obliga a l'original a baixar el seu preu fins a igualar el preu de referència del conjunt per poder seguir finançat a càrec de fons públics. Això permet alliberar part del pressupost, que podrà ser invertit bé en tractar a un major nombre de pacients, bé per facilitar l'entrada de nous fàrmacs innovadors d'alt cost o bé per cobrir altres necessitats sanitàries. A més, aquest increment de la competència resulta ser un motor en el foment de la R + D + I.

En definitiva, els medicaments biosimilars, amb les mateixes garanties de qualitat, seguretat i eficàcia, generen competència i per tant, disminueixen els costos dels tractaments biològics. Això redundaria en una major eficiència terapèutica i, en conseqüència, contribueix a la sostenibilitat del Sistema Nacional de Salut.

Bibliografia

- (1) Comissió Europea. “Lo que debes saber sobre medicamentos biosimilares”. *Documento informativo de Consenso*. 2013
- (2) *DIRECTIVA 2001/83/CE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 6 de novembre de 2001 por la qual s'estableix un codi comunitari sobre medicaments d'ús humà.*
https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2001_83_consol_2012/dir_2001_83_cons_2012_es.pdf
(visitado el 23/07/2018)
- (3) http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages%2Fmedicines%2Flanding%2Fepar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&searchTab=searchByAuthType&alreadyLoaded=true&isNewQuery=true&status=Authorised&keyword=Enter+keywords&searchType=name&taxonomyPath=&treeNumber=&searchGenericType=biosimilars&genericsKeywordSearch=Submit
- (4) *DIRECTIVA 2010/84/UE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 15 de desembre del 2010 que modifica, pel que fa a la farmacovigiància, la Directiva 2001/83/CE per la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano.* <https://www.boe.es/doue/2010/348/L00074-00099.pdf>
- (5) *DIRECTIVA 2012/26/UE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 25 d'octubre de 2012, per la qual es modifica la Directiva 2001/83/CE pel que fa a la farmacovigilància.* https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2012_26/dir_2012_26_es.pdf
- (6) *Reial Decret 577/2013, de 26 de julio, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano.* <https://www.boe.es/boe/dias/2013/07/27/pdfs/BOE-A-2013-8191.pdf>
- (7) *DIRECTIVA D'EXECUCIÓ 2012/52/UE DE LA COMISSIÓ, de 20 de desembre de 2012, per la qual s'estableixen mesures per facilitar el reconeixement de les receptes mèdiques expedides en un altre estat membre.*

https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/cross_border_care/docs/impl_directive_prescriptions_2012_es.pdf

- (8) *Biosimilars in the EU: Information guide for healthcare professionals* (http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Leaflet/2017/05/WC500226648.pdf)
- (9) Kurki P, et al. “Interchangeability of Biosimilars: A European Perspective”. *BioDrugs*. 2017; Apr;31(2):83-91.
- (10) *Reial Decret Legislatiu 1/2015, de 24 de juliol, pel qual s'aprova el text refós de la Llei de garanties iús racional dels medicaments i productes sanitaris.* <https://www.boe.es/boe/dias/2015/07/25/pdfs/BOE-A-2015-8343.pdf>

6. EL DESENVOLUPAMENT DELS MEDICAMENTS BIOSIMILARS A ESPANYA

Carlos Lens

1. Introducció: La protecció de la propietat intel·lectual i industrial al segle XXI i els seus efectes sobre la farmacoeconomia

Els acords ADPI (Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio) van entrar en vigor el 1998 i amb ells es va generalitzar la protecció a la propietat intel·lectual i industrial. Tot just un grapat de països es van abstir de subscriure'ls i es pot afirmar que han quedat exclosos d'una part considerable dels processos de decisió supranacionals que condicionen el progrés de la humanitat. Això no obstant, els efectes per als estats no signataris dels ADPIC no són tan deleteris com el *default* financer però són bona mostra de l'esclavitud que prové de la globalització.

Entre els ADPIC figuren els acords sobre protecció de la propietat industrial, és a dir, l'esquema de protecció mitjançant patents. No vol dir això que els invents no estiguessin protegits abans de l'entrada en vigor dels ADPIC —tot el contrari— sinó que la subscripció dels ADPIC a la Ronda Doha de l'Organització Mundial del Comerç va propiciar la generalització de la protecció de la propietat intel·lectual i industrial i només uns quants països prenen seguir actuant fora d'aquest marc.

Els experts en matèria farmacèutica van pronosticar un increment en els preus dels nous medicaments com a conseqüència de la implementació dels ADPIC. No es van equivocar. La innovació farmacològica al segle XXI es comercialitza a preus sense precedents. Si es comparen els preus que posen les empreses titulars dels nous medicaments amb els de l'últim quart del segle XX s'assisteix a un canvi de paradigma.

Les decisions sobre preus de nous medicaments van seguir les línies que marcava l'economia clàssica. Per la seva banda, les innovacions farmacològiques evolucionaven a petits passos, és a dir, el medicament

nou almenys tenia els mateixos avantatges que l'anterior i en ocasions els millorava. Aquesta tendència es va trencar quan la investigació biomèdica pluridisciplinar va canviar els enfocaments i la investigació aplicada va començar a nodrir-se dels avenços en aspectes biològics fonamentals per a la fisiopatologia. Van aparèixer innovacions disruptives i en poques dècades es va modificar l'eficàcia dels invents farmacoterapèutics. Els nous fàrmacs van gaudir de condicions de preu enormement atractives, amb les quals es van cobrir altament les assignacions de recursos a la R + D i el creixement de les estructures empresarials necessàries per a la investigació, fabricació i comercialització de les innovacions. Els mercats de valors van reconèixer els èxits econòmics del sector farmacèutic i la capitalització borsària de moltes empreses n'és una bona prova.

No obstant això, la protecció que els ADPIC atorguen és temporal i les innovacions farmacològiques, més tard o més d' hora, estan destinades a competir. Durant el període de privilegi que és la vigència de la patent, hi ha la possibilitat que sorgeixi un producte competitor que també estigui patentat amb unes indicacions terapèutiques que coincideixin amb les d'un medicament ja comercialitzat. En expirar el període de protecció de la patent, que es manté durant vint anys llevat de l'extensió que preveuen els mecanismes complementaris de la Unió Europea, qualsevol empresa pot entrar en el mercat amb competidors iguals o similars en composició, dosi i fitxa tècnica. D'altra banda, els principis de la bioètica i les necessitats financeres dels sistemes sanitaris permeten que els competidors rebin les autoritzacions de comercialització recolzant-se en les dades del medicament original -almenys en bona mesura- i, per tant, que els costos de desenvolupament d'aquests competidors siguin menors.

Medicaments biològics i biosimilars

El nombre de fàrmacs biològics és clarament inferior als d'estructura química. Fa mig segle eren molt pocs -factors de coagulació i hormones extretes d'òrgans d'animals o de cadàver humà- però els avenços en genètica, bioquímica i microbiologia han capgirat aquesta situació. Primer va ser la bioenginyeria la que va fer possible l'expressió de gens humans en cèl·lules microbianes, i després es va passar als cultius de teixits els genomes dels quals s'havien inserit els gens responsables de la

producció de proteïnes humanes. A continuació, ja a final del segle XX, van sorgir els anticossos monoclonals produïts per hibridomes humanitzats, dirigits contra dianes fisiopatològiques específicament vinculades a processos bioquímics relacionats íntimament amb l'etiopatogènia de malalties que fins ara estaven mancades d'abordatge terapèutic. El resultat és que l'arsenal farmacològic compost per medicaments biològics s'ha multiplicat en gran mesura en les últimes quatre dècades. Aquests fàrmacs són clau en el tractament de malalties tan prevalents com la diabetis, que afecta un 5% de la població en els països desenvolupats, o estan inclosos en els protocols terapèutics de les malalties neoplàsiques o en els processos immunopatològics, als quals cal afegir un nombre creixent de malalties rares.

Igual que els fàrmacs d'estructura química, els medicaments biològics són susceptibles de ser patentats i gaudir d'un període de privilegi sense competència de medicaments formulats amb un principi actiu similar. Atès que la immensa majoria dels medicaments biològics posseeixen estructura proteica i que dues proteïnes que tenen en comú la cadena d'aminoàcids poden diferir —almenys teòricament— en l'estructura quaternària, s'accepta de referir-se a dos medicaments biològics que comparteixen el principi actiu no com a iguals sinó com a similars. D'aquí l'accepció *medicament biosimilar*, que s'explica per si mateixa i diferencia aquests fàrmacs dels d'estructura química, per als quals es reserva la qualificació de *medicaments genèrics*.

A diferència dels medicaments genèrics, els biosimilars estan subjectes a normes més estrictes pel que fa a les autoritzacions de comercialització. En la immensa majoria dels casos, els medicaments genèrics no han d'incloure en els expedients d'autorització un paquet complet d'assajos clínics, sinó que n'hi ha prou de demostrar la bioequivalència mitjançant un assaig de fase I. Els expedients de fàrmacs biosimilars, per contra, sí que han d'incloure assaigs de bioequivalència clínica com a resultat de la manca d'igualtat estructural que ja s'ha explicat i que pot determinar, entre altres coses, diferències en la immunogenicitat.

Els reguladors han desenvolupat un marc normatiu molt estricte que va de l'obligació de demostrar l'equivalència clínica en el procediment d'autorització de comercialització a la prohibició de substituir un medicament biològic per un altre en la pràctica mèdica. És a dir, en l'acte

de dispensar la recepta o l'ordre de dispensació, el farmacèutic ha de respectar la instrucció del prescriptor i abstenir-se de dispensar un medicament diferent del prescrit, encara que tingui la mateixa composició, dosi i forma de dosificació.

Pràctica mèdica i medicaments biològics

L'elevat preu dels nous fàrmacs afavoreix, com ja s'ha indicat, la competència. Ho fa tant mentre dura la protecció per patent com després de la seva expiració. En el primer cas es produeix el desenvolupament d'equivalents terapèutics que sovint pertanyen a la mateixa família químicoterapèutica -els anomenats *me-too products*- i els efectes farmaco-econòmics són variables dependent de les diferències en eficàcia i seguretat. Fins i tot l'empresa titular del fàrmac principal d'una nova categoria terapèutica pot recórrer a l'estrategia de l'*evergreening*, que consisteix a esglaonar el desenvolupament de noves molècules de manera que pugui entrar al mercat aproximadament en el moment en què el primer de la sèrie perdi la protecció per patent. Així, l'empresa titular pot mantenir la posició de franquícia amb un fàrmac d'una generació posterior que estarà protegit per patent durant uns quants anys un cop hagi vençut la patent del primer.

No obstant això, el més freqüent és que expiri la patent i que entrin al mercat competidors que comparteixen el principi actiu. En el cas de fàrmacs d'estructura química, els competidors són medicaments genèrics. Si es tracta de fàrmacs biològics, l'arribada de competidors biosimilars al mercat sol ser més lenta a causa de l'elevat cost de desenvolupament. Així i tot, les patents expiren i els competidors hi són. L'efecte immediat és un descens dels preus, més ràpid en el cas de fàrmacs amb competència genèrica. Això també afecta els medicaments biològics, tot i que de manera diferent o, per ser més precisos, fa que els fàrmacs que s'adquireixen preferentment en l'àmbit hospitalari se sotmetin a les forces del mercat.

El sistema de preus de referència de medicaments gaudeix de llarga tradició a Espanya i afecta profundament la prescripció i dispensació de medicaments inclosos en la prestació farmacèutica del Sistema Nacional de Salut (SNS). Les tensions pressupostàries que afecten els gestors

sanitaris -encara més durant la crisi econòmica del 2008- han fet que aquesta eina s'hagi enfortit fins a extrems difícilment previsibles quan van començar a aplicar-se mètodes d'avaluació farmacoeconòmica i que en la segona dècada del segle XXI hagi passat a exercir una enorme influència sobre la pràctica mèdica.

El legislador ha instituït la prescripció per principi actiu ja des del final de la primera dècada del segle XXI. El vigent text refós de la Llei de garanties dels medicaments i productes sanitaris, aprovada mitjançant el Reial Decret Legislatiu 1/2015, així ho recull a l'article 87. A resultes d'això, és preceptiu que el metge del SNS prescrigui per principi actiu com a norma general i únicament pugui utilitzar les denominacions comercials quan es tracti de medicaments no intercanviables, de manera que el farmacèutic dispensador s'abstingui de substituir-los. Aquesta excepció de l'esmentat article de la Llei afecta de ple els medicaments biològics i la presència en el mercat de competidors biosimilars no s'associa a la ràpida substitució que ha caracteritzat els medicaments d'estrucció química.

El metge prescriptor que oficia al SNS ha d'adequar la seva executòria de manera diferent segons si exerceix en l'àmbit ambulatori o a l'hospital. No està obligat a prescriure medicaments biològics per principi actiu i pot continuar receptant el fàrmac original, i el farmacèutic ha de respectar l'ordre de prescripció encara que existeixin alternatives biosimilars menys costoses en el mercat. Cal aclarir que aquest fenomen és transitori i que la següent Ordre d'actualització del sistema de preus de referència de medicaments eliminarà les diferències entre medicament biològic original i els seus biosimilars, i a partir d'aleshores la decisió de receptar l'un o l'altre serà neutra a efectes econòmics.

En l'àmbit hospitalari la situació és diferent. La immensa majoria dels medicaments d'alt preu es concentra en aquestes institucions i els responsables econòmics del SNS tenen una influència creixent sobre les decisions farmacoterapèutiques. Les adquisicions de medicaments als hospitals públics s'efectuen a preus inferiors als PVL oficials, però tot i així els gerents no vacil·len a imposar l'adquisició de les alternatives més efectives pel que fa al cost, en ocasions en contra del criteri mèdic. La conseqüència és que la competència per preu opera des del mateix moment en què hi ha opcions biosimilars disponibles per al SNS. No

s'espera que la següent actualització dels preus de referència iguali els PVL entre original i biosimilar.

A la pràctica privada, la pressió per prescriure les opcions menys costoses és notablement inferior o absent. No és infreqüent trobar situacions en què s'opta per excloure el medicament de referència, que en el seu moment havia estat original, del sistema de finançament del SNS, i es manté una posició de privilegi en el mercat privat, en el qual el preu pot pesar menys que la recomanació facultativa.

Així doncs, s'assisteix a dos sectors ben diferenciats en la pràctica mèdica pel que fa a prescripció i dispensació de medicaments biosimilars. En el SNS, la pressió per utilitzar biosimilars és alta i no s'aprecien indicis de canvi, sinó tot el contrari. A la pràctica privada, es respecta més el criteri mèdic. Malgrat tot, cal recordar que el SNS representa més del 90% del consum farmacèutic en el segment hospitalari i que la diferència és encara més gran si s'analitza el consum de medicaments d'alt cost.

El debat sobre intercanviabilitat de medicaments biològics

En altres capítols d'aquest volum es tracta aquest assumpte en profunditat, però si tractem dels aspectes econòmics cal fer-hi una breu referència. Es resumeix en que hi ha factors tant a favor com en contra.

La noció de intercanviabilitat de fàrmacs neix als anys seixanta del passat segle, en temps decisius per a la farmacologia. Va ser en aquesta dècada quan es van conèixer les dimensions del desastre de la talidomida, que va deixar milers d'afectats de focomèlia. Aquest efecte advers d'origen teratogènic es va sumar a les intoxicacions -moltes de les quals amb desenllaç fatal- per etilenglicol, que s'emprava com a excipient en formes líquides de sulfamides. Aquests casos van propiciar la intervenció decidida dels legisladors per reordenar l'actuació dels ens reguladors de la comercialització de medicaments. La directiva 65/65 de la Comunitat Econòmica Europea es va promulgar en aquells dies, quan l'actual Unió Europea la componien tan sols set estats membres i es denominava, per simplificar, Mercat Comú. Des de llavors s'assisteix a un prolix desenvolupament normatiu que arriba a totes les facetes de la

farmàcia i la farmacologia. És evident que l'activitat de substitució de medicaments, una tasca que els farmacèutics havien estat desenvolupant des que van aparèixer els medicaments de fabricació industrial, no podia quedar apartada de l'intens procés regulador, i el resultat és el desenvolupament i implementació d'un conjunt de regles per determinar en quins casos resulta procedent de substituir medicaments.

Els medicaments biològics continuen sent considerats no intercanviables. Per aquest motiu, els reguladors mantenen una posició molt estricta en aquest punt.

No obstant això, la ciència avança i qüestiona els paradigmes del passat. Un assaig clínic del 2016 realitzat en 25 hospitals de Noruega per Jorgensen et al., en què es va estudiar la bioequivalència clínica del infliximab administrant medicament biosimilar i de referència, va concloure que no hi havia diferències significatives entre els medicaments testats, tant en nivells hemàtics o en efectes terapèutics, com tampoc no es van registrar diferències significatives quant a efectes adversos ni en la immunogenicitat. El disseny en doble cec, l'elevat nombre de pacients avaluables i la solidesa dels resultats —empitjorament com a *endpoint* primari— donen gran validesa a aquest assaig multicèntric que en la literatura biomèdica es coneix com *Nordic Switch*.

L'estudi de Jorgensen, finançat amb fons del govern noruec, posa en qüestió la validesa de les restriccions vigents en els ordenaments sobre la no intercanviabilitat de fàrmacs biològics. És possible que es puguin suavitzar les barreres a la substitució de medicaments biològics, però encara queda camí per córrer. El treball de l'equip noruec s'ha efectuat amb anticossos monoclonals procedents de diferents hibridomes, la qual cosa dona a aquestes substàncies una homogeneïtat notable que no es pot estendre a la lleugera a altres fàrmacs biològics, i així ho reconeixen els mateixos autors en les seves conclusions. Les insulines difereixen en gran mesura entre si, i el canvi de tractament d'un tipus a un altre exigeix prendre precaucions importants. I això mateix es pot afirmar dels factors de coagulació. Si bé hi ha experiència extensíssima sobre canvis en els tractaments amb immunoglobulines d'origen divers, la mateixa no pot ser transferida sense més als anticossos monoclonals, per més que també siguin IgG.

És possible que els reguladors arribin a acceptar la intercanviabilitat de medicaments biològics en certes condicions, però per a això cal sumar més assaigs clínics com el *Nordic Switch*.

Fins que no es pugui disposar d'aquesta informació, els medicaments biològics continuaran sent considerats no intercanviables, i aquesta característica es mantindrà com la principal barrera per a l'entrada d'aquests fàrmacs als mercats. Com a contrapunt a la barrera reguladora, s'alça el nivell del responsable de la gestió assistencial, que no pot prescindir del criteri del baix cost en els medicaments biosimilars. Cal tenir en compte que el finançament dels nous fàrmacs en els Sistemes Nacionals de Salut exigeix incorporar ràpidament alternatives menys costoses a la cartera assistencial. Els fàrmacs biosimilars constitueixen una fracció bàsica d'aquesta cartera i són motors irreemplaçables en el manteniment de l'equilibri pressupostari.

Medicaments biosimilars disponibles al segon semestre del 2018

L'any 2018 es va iniciar amb nou principis actius d'estructura biològica comercialitzats a Espanya per als quals existia competència de medicaments biosimilars:

Somatotropina
Epoetina
Filgrastim
Folitropina alfa
Infliximab
Etanercept
Condroitinsulfat
Rituximab
Insulina glargina

Durant el segon semestre del 2018, a aquesta llista, s'hi han afegit tres principis actius més:

Trastuzumab
Enoxaparina
Adalimumab

Properament hi haurà venciments de les patents de fàrmacs tan promi-nents com el bevacizumab, el ranimizumab i altres. Atès que es continu-en autoritzant nous fàrmacs d'estructura biològica, el procés d'entrada de nous biosimilars en els mercats es mantindrà durant dècades i els medicaments biològics de referència coexistiran amb competidors bio-similars.

D'ençà de l'entrada del primer biosimilar al mercat es produeix com-petència per preu. El regulador espanyol -igual que altres autoritats d'estats membres de la UE- exigeix descensos en els PVL del primer biosimilar. Durant els últims cinc anys, els descensos del PVL autoritzat han oscil·lat entre un 20% i un 30%, però la tendència que s'aprecia en les últimes decisions de la Comissió Interministerial de Preus dels Medicaments —òrgan col·legiat responsable de les decisions de preu i condicions de finançament dels medicaments en el SNS— s'orienta al -40 % que s'aplica al primer competitor genèric per al cas dels fàrmacs d'estructura química.

Penetració dels medicaments biosimilars al mercat espanyol

La singularitats dels medicaments biosimilars i la conjuntura econòmica al final de la segona dècada del segle XXI formen un escenari de mercat que presenta diferències notables amb el segment dels fàrmacs d'estruc-tura química. Fa gairebé trenta anys, els primers medicaments genèrics es van enfocar a un mercat hostil; la presència d'opcions terapèutiques més econòmiques no era benvinguda i van haver de caure nombrosos prejudicis abans que prevalgués la lògica del mercat: expirat el període de protecció per patent i comercialitzades les alternatives genèriques, els preus han de baixar per efecte de la competència.

Com ja s'ha indicat, la situació dels medicaments biosimilars és un xic different. Com a biològics, no són intercanviables i, a més a més, la prescripció per marca és pràctica general.

En conseqüència, la disponibilitat de competidors biosimilars al mercat és una condició necessària però no suficient perquè s'instauri la com-petència per preu. La pressió de les empreses titulars dels medicaments biològics de referència ha estat i és molt intensa i ha estat necessari que

els gestors del SNS posessin en pràctica una sèrie d'accions per intentar evitar el bloqueig a l'entrada de la competència per biosimilars. El resultat és, com es presenta a continuació, una penetració dels medicaments biosimilars al mercat espanyol lenta però amb indicis d'acceleració i participacions percentuals creixents en cada segment del mercat de medicaments biològics.

Malgrat això, la comparació de consum de medicaments biosimilars únicament té sentit si s'efectua amb altres medicaments biològics. En aquest sentit, les dades de consum farmacèutic del Ministeri de Sanitat, Consum i Benestar Social informen del consum real de medicaments en recepta oficial del SNS. No es tracta de panells de mercat sinó de xifres exactes de consum de fàrmacs finançats amb fons públics. El consum de medicaments en hospitals ha estat una dada opaca durant moltes dècades i fins fa molt poc no se n'ha abordat l'anàlisi de manera decidida. Així, des del 2016, es disposa de dades precises sobre l'estructura d'aquest segment. Segons aquesta font, l'1,6% dels envasos facturats en el primer trimestre del 2018 van correspondre a medicaments biosimilars i la xifra de despesa expressada en PVL va arribar al 3,2%.

Els resultats de les comparacions varien segons quins paràmetres s'utilitzin. El Ministeri de Sanitat, Consum i Benestar Social, en els seus informes, fa servir els següents:

Nombre d'envasos

Valor del PVL

Dosis diàries definides (DDD)

Durant el primer trimestre del 2018, en el si del SNS, es van consumir un total de 902.000 envasos de medicaments biosimilars, cosa que significa un 14,3% del total en medicaments biològics. En termes de DDD, en el període observat van ser un 10,5%, i quant al valor del PVL, un 23,4%. Aquestes xifres posen de manifest la disparitat entre els diversos paràmetres a l'hora d'ofrir una imatge representativa del pes dels medicaments biosimilars en l'estructura del consum dels medicaments biològics.

A l'hora d'enjudiciar el valor dels tres paràmetres enunciats, el menys afavorit és la DDD. Hi ha raons per deixar en segon pla la DDD, perquè

es tracta d'una variable generada convencionalment per l'OMS per facilitar l'elaboració d'estudis de consum de medicaments entre diferents poblacions o subpoblacions, però no per afegir dades de consum d'un conjunt de medicaments.

El valor del consum expressat pel PVL tampoc no és una variable prou explicativa del consum farmacèutic de medicaments biològics. El seu caràcter de màxim, recollit en l'article 94 del Text Refós de la Llei, provoca que hi hagi diferències entre les xifres reals i les obtingudes multiplicant el nombre d'envasos pel PVL intervingut.

El nombre d'envasos és, tant per exclusió com per sentit i significat, el paràmetre que més bé informa sobre la penetració dels medicaments biosimilars en el consum de medicaments biològics. Les raons són múltiples, però es poden resumir en que un envàs de medicament biològic representa una unitat precisa de tractament, tant si és innovador com biosimilar.

No obstant això, en les següents comparacions, s'atendrà en certs casos a DDD o al PVL a fi d'aportar un quadre relativament homogeni. Cal tenir en compte que no sempre hi ha DDD per a tots els fàrmacs -com en el cas del rituximab el 2018- i que el valor del DDD disminueix notablement si existeix variabilitat en les pautes de dosificació.

Per als medicaments biològics més utilitzats en l'entorn hospitalari, el valor de consum del PVL aporta un valor orientatiu, ja que es tracta d'una quantitat intervinguda en molts països. No obstant això, en el cas espanyol, el PVL té caràcter de màxim (article 94 del text refós de la Llei de garanties i de l'ús racional dels medicaments i productes sanitaris) i la realitat és que aquest precepte s'utilitza a fons pels gestors dels hospitals del SNS, que cerquen el necessari preu més baix per fer possible la sostenibilitat de l'assistència sanitària.

Els patrons de penetració de medicaments biosimilars difereixen segons si es tracta de medicaments que es dispensen mitjançant per recepta o a través dels serveis farmacèutics hospitalaris. També, com és lògic, els biosimilars tenen més probabilitat d'assolir cotes de penetració més elevades si fa més anys que es comercialitzen. Les xifres percentuals disponibles en el context del SNS així ho indiquen.

Els primers biosimilars mostren diversos graus de penetració. Filgrastim és el líder en penetració -se situa en el 90% en nombre d'envasos-, seguit per epoetina -que supera el 60%- . L'evolució en termes percentuals és clarament a l'alça. Per contra, el biosimilar formulat amb HGH se situa en cotes molt modestes, sense superar el 20% i amb tendència decreixent el 2017. Cal assenyalar, però, que només hi ha un medicament biosimilar amb aquest principi actiu a Espanya i que competeix amb els biotecnològics que en el seu dia van representar una innovació notable.

Els exemples anteriors són importants, però les seves situacions són massa específiques per treure'n conclusions. Les seves característiques definitòries són molt diferents dels fàrmacs biològics de més pes en l'estrucció de la despesa farmacèutica del SNS: antineoplàsics i immunològics. Aquestes dues categories, pertanyents al grup L de la classificació ATC, són la partida principal de despesa en medicaments biològics. Convé, per tant, analitzar la dinàmica de la seva entrada al mercat. El problema és que els nous medicaments biosimilars fa poc temps que es comercialitzen. Així i tot, els biosimilars d'infliximab arriben a un 41,4% en l'últim període i etanercept frega el 9%, amb increments significatius durant l'últim any —aquestes xifres percentuals es refereixen a envasos—. Les primeres dades de l'entrada de biosimilars de rituximab indiquen el mateix patró.

Els medicaments biològics d'ús ambulatori mostren patrons de penetració diferents segons si s'observen les dades procedents de recepta o de l'hospital. Així, el biosimilar d'insulina-glargina mostra molta més penetració a l'hospital (23,8%) que en l'àmbit ambulatori (7%). En aquest fàrmac no s'aprecien grans diferències entre envasos i DDD, a diferència del que s'esdevé en altres casos.

La penetració del condrotinsulfat és molt baixa de moment. En consum ambulatori, se situa per sota de l'1%, i a l'hospital tot just arriba al 3%. Les xifres són molt baixes, encara que apunten al mateix patró que mostra la insulina glargina.

Diferències territorials

L'estrucció del SNS espanyol s'ha consolidat en un conglomerat format

per disset comunitats autònombes i dues ciutats on la població és atesa per l’Institut de Gestió Sanitària. A aquestes entitats gestores d’àmbit públic se sumen les mutualitats de funcionaris, de la judicatura i de les Forces Armades, com també la sanitat d’Institucions Penitenciàries. A efectes de comparació, n’hi ha prou de centrar-se en el nivell autonòmic, atès que una elevada proporció de beneficiaris de les mutualitats rep assistència als hospitals de les Comunitats, cosa que també passa amb la població reclusa.

En envasos, els medicaments biosimilars són el 14,3% del consum de medicaments biològics. El rang de penetració de medicaments biosimilars es mou entre un 7 i un 21%.

En PVL, la mitjana estatal és d’un 23,4%, i els extrems oscil·len entre un 10,7% i un 39,4%.

Conclusions

Primera. A diferència del que va passar a l’última dècada del segle XX amb els medicaments genèrics, l’entrada de medicaments biosimilars al mercat espanyol s’està produint de forma esgraonada però progressiva, sense que el regulador hagi introduït modificacions importants en el marc normatiu.

Segona. El regulador de preu i condicions de finançament està acostant la intervenció en el moment d’autorització del primer biosimilar en línia amb els criteris aplicats als medicaments genèrics.

Tercera. Les forces del mercat actuen sobre el preu dels medicaments biosimilars amb més intensitat que sobre els medicaments genèrics. Aquest procés, desitjable des de la perspectiva de l’SNS, té un efecte desincentivador sobre el desenvolupament de nous biosimilars.

Quarta. La velocitat de penetració dels nous medicaments biosimilars en el mercat varia en funció de si el fàrmac es dispensa en l’àmbit ambulatori o hospitalari. En el primer cas, el procés és notablement més lent. El nombre de competidors és un factor important a l’hora d’assolir un alt nivell de penetració, fins i tot en el sector hospitalari.

Cinquena. La normativa sobre intercanviabilitat juga un paper determinant a l'hora de decidir la prescripció i és probable que es requereixi adaptar el marc normatiu a la nova situació, especialment en els anticossos monoclonals.

Sexta. En les decisions dels reguladors i adquirents o prescriptors de medicaments s'ha de tenir en compte la localització de les produccions de medicaments biotecnològics -biosimilars o de referència-, així com la titularitat de les instal·lacions. La R + D + I de medicaments biotecnològics és costosa i les decisions d'inversió en actius fixos i contractació de personal revesteixen caràcter estratègic i, per això, l'assignació de recursos via mercat no ha de defugir aspectes tan rellevants i que tenen tant impacte en el desenvolupament socioeconòmic.

7. EL FUTUR DE LA BIOTECNOLOGIA

7.1. Proteïnes recombinants d'interès farmacològic

Santiago Cuéllar Rodríguez

Introducció

Els **medicaments biotecnològics** són anomenats genèricament també **biofàrmacs**, la qual cosa vol dir que hi participen organismes vius o els seus extractes (cèl·lules, teixits, fluids) per produir el principi actiu i que s'obtenen mitjançant procediments biotecnològics a partir d'ADN recombinant i processos de hibridació cel·lular. Tenint en compte la seva finalitat farmacològica i terapèutica, bàsicament podem considerar quatre grans grups de proteïnes recombinants desenvolupades a partir del model natural fisiològic humà o d'altres animals (xenobiològics):

- I. Emprades en teràpies permanents de restauració o substitució funcional fisiològica.
- II. Emprades en teràpies agudes d'inducció, potenciació o inhibició de disfuncions patològiques.
- III. Agents xenobiològics amb finalitat farmacoterapèutica.
- IV. Biofàrmacs amb finalitat diagnòstica funcional.

I. Teràpies permanentes de restauració o substitució funcional fisiològica

Són biofàrmacs que requereixen ser aplicats de forma permanent o, almenys, crònica per restaurar o substituir una funció fisiològica rellevant que està absent (de forma congènita o adquirida) o que existeix de forma deficient (en quantitat) o inefficient (tipus funcional). Generalment, es refereix a enzims o hormones clau per a determinades rutes biològiques, l'absència o deficiència persistent provoca importants deterioraments funcionals fisiològics -metabolopaties- de caràcter acumulatiu i discapacitant, podent ser eventualment mortals, fins i tot durant la infància en

determinats casos.

Un exemple d'aquesta mena de biofàrmacs són les diverses formes d'insulina desenvolupades per adequar-se a les diferents característiques dels pacients amb diabetis mellitus de tipus 1 i 2; els anàlegs recombinants enzimàtics emprats en **enzimopaties**, moltes d'elles de caràcter congènit, com la sebelipasa emprada en deficiència de *lipases àcida liposomal*. En aquest sentit, hi ha milers de condicions específiques que té l'origen en defectes genètics (mutacions) d'un sol dels seus gens (monogèniques) que determina la deficiència enzimàtica; però, també hi ha un ampli ventall de malalties que apareixen com a conseqüència de l'anomalia combinada de diversos gens (poligèniques). Un altre exemple característic el formen els derivats i anàlegs de **factors de coagulació**, indicats a hemofília A i B i altres deficiències del sistema fisiològic de coagulació; un exemple d'incorporació recent és el *lonoctocog alfa*, és una proteïna humana recombinant que substitueix el factor VIII de coagulació absent en els pacients amb hemofília A. Per la seva banda, les **epoetinas** (formes recombinants de l'eritropoetina humana fisiològica), utilitzades no només per el tractament de l'anèmia simptomàtica associada a la insuficiència renal crònica en pacients adults, sinó també en altres formes simptomàtiques d'anèmia associades a diferents trastorns, com les neoplàsies no mieloides tractats amb quimioteràpia o l'artritis reumatoide.

Hi ha importants quadres patològics associats a deficiències d'hormones hipofisàries i hipotalàmiques susceptibles de ser tractades mitjançant la restauració amb anàlegs recombinants, com és el cas de la **somatropina** (hormona del creixement) o de la **mecasermina**, una forma recombinant del factor de creixement insulínic tipus 1 (IGF-1) emprada en nens i adolescents amb un dèficit primari greu d'aquest. També s'han utilitzat algunes hormones com a model per produir agents funcionalment antagònics com el **pegvisomant**, un anàleg de l'hormona de creixement humana modificada biotecnològicament per ser un antagonista del receptor d'aquesta, en el tractament de l'acromegàlia. En alguns pacients, l'ocupació de **gonadotrofines** recombinants s'utilitza per pal·liar la deficiència congènita o adquirida.

II. Teràpies d'inducció, potenciació o inhibició puntual de disfuncions patològiques

Comporten l'ús d'agents biotecnològics idèntics o funcionalment relacionats amb proteïnes fisiològiques humanes, amb caràcter puntual o durant petits períodes de temps, per tal d'induir, potenciar o inhibir temporalment una activitat fisiològica en un moment determinat per fer front a un procés patològic o per provocar un efecte terapèuticament útil.

Probablement, és el grup més nombrós d'aquest tipus de medicaments, pel que ens limitarem a ressenyar només alguns exemples rellevants. D'altra banda, en aquest grup també considerem algunes macromolècules no peptídiques com les **heparines**, fraccionats o no, com útils agents antitrombòtics; si són peptídiques - obviament - elsenzims **trombolíticas**, algunes de les quals tenen el seu origen en proteïnes humanes, com la *urocinasa*, mentre que altres tenen un origen microbià, com la *estreptocinasa* i els seus diversos derivats. També en aquest camp cal esmentar l'**inhibidor de la C1** esterasa, autoritzat pel tractament dels episodis aguts d'angioedema hereditari de tipus I i II, o l'**antitrombina alfa**, una forma recombinant d'antitrombina autoritzada per a la profilaxi del tromboembolisme venós en cirurgia de pacients amb deficiència congènita d'antitrombina.

Són nombroses les indicacions terapèutiques de les diverses formes recombinants de les hormones sexuals d'origen hipofisari. Un simple exemple representatiu és la **folitropina alfa**, una forma recombinant de les FSH humana (hormona fol·licle-estimulant), autoritzada per indicacions tan diverses com anovulació (incloent la síndrome de l'ovari poliquístic), estimulació del desenvolupament fol·licular múltiple en dones sotmeses a tècniques de reproducció assistida, estimulació del desenvolupament fol·licular en dones amb deficiència greu de LH i FSH; en homes adults està indicada per estimular l'espermatoogènesi en homes amb hipogonadisme hipogonadotropo congènit o adquirit.

Les **citocines** i els seus anàlegs, tots ells en forma recombinant, han entrat de ple en la terapèutica farmacològica. Entre elles hi ha els *mediadors de la immunitat natural* implica-dues majoritàriament en la inflamació aguda i en les defenses abans que s'iniciï la resposta immunitària, entre les quals cal citar la tasonermina (TNF- α) i els diferents tipus de

interferons, els quals tenen una àmplia diversitat d'indicacions: esclerosi múltiple per l'**interferó beta** i hepatitis B i C, i diverses formes de leucèmia i limfomes, mieloma múltiple i melanoma per l'**interferó alfa**. Entre dels *reguladors limfocitaris* pot citar a la **aldesleucina**, un anàleg recombinant de la interleucina 2 (IL-2) indicat en el tractament del carcinoma metastàtic de cèl·lules renals. També mereix una especial consideració els *reguladors de leucòcits immadurs*, fisiològicament implicats en la hematopoiesi i en el creixement i diferenciació de les cèl·lules progenitors de la medul·la òssia i coneguts col·lectivament com a factors estimulants de colònies (*colony stimulating factor, CSF*), entre els quals es troben el àmpliament utilitzat **filgrastim** (del qual hi ha diversos biosimilars ja comercialitzats) i els seus derivats **pegfilgrastim** i **lipegfilgrastim**, i així mateix el **lenograstim**.

La **dibotermina alfa** és una forma recombinant de la *proteïna-2 humana morfogènica*, un dels membres de la superfamília de factors de creixement i diferenciació TGF- β (*Factor de Creixement Transformant Beta*). La proteïna osteogènica està fisiològicament implicada en la morfogènesi òssia, amb acció inductora de la formació de nou teixit ossi, a través de la unió a receptors específics de superfície presents en les cèl·lules mesenquimàtiques, induint la seva diferenciació en cèl·lules formadores d'os i de cartílag. La dibotermina va continguda en una matriu o esponja bioadsorbible, formada per col·lagen. S'utilitza mitjançant la col·locació quirúrgica en el lloc defectuós, en contacte amb la superfície òssia prèviament preparada.

La **ocriplasmina** es correspon amb una fracció de la *plasmina* humana, de la qual conserva la seva activitat proteolítica, capaç d'actuar sobre determinades proteïnes presents en el vitri ocular, especialment *laminitina*, *fibronectina* i *col·lagen*, el que es tradueix en una desagregació de la matriu proteica responsable de l'adherència vitreomacular i de la tracció vitreomacular. Ha estat autoritzada per ser administrada de forma intra-vítria en el tractament de la tracció vitreomacular (TVM).

III. Agents xenobiològics amb finalitat farmacoterapèutica

Són biofàrmacs procedents o modificats a partir d'organismes aliens a l'ésser humà, amb capacitat de provocar en aquest respostes potencialment útils en la prevenció o al tractament curatiu o palliatiu de condicions patològiques. Incloem en aquest grup a agents que tenen - parcial o totalment - una estructura no proteica, sinó polisacarídica o liposacarídica, com passa amb nombroses vacunes, per exemple.

Les úniques **calcitonines** utilitzades en clínica no són humanes sinó, curiosament, de salmó, molt més potents però funcionalment idèntiques; s'utilitzen en la prevenció de pèrdua aguda de massa òssia deguda a immobilització sobtada com en el cas de pacients amb fractures osteoporòtiques recents, així com en la malaltia de Paget i en la hipercalcèmia tumoral.

La **pegaspargasa** és una forma pegilada de la asparaginasa, autoritzada com a part del tractament de la leucèmia limfocítica aguda. Aquesta asparaginasa s'extreu de l'*Escherichia coli* i altres bacteris (*Serratia marcescens*, *Erwinia spp*) i el procés de pegilació - mitjançant la unió de diverses cadenes polimèriques de polietilenglicol, PEG) permet perllongar el temps de residència a l'organisme de la asparaginasa, mantenint la seva plena capacitat farmacològica, incrementat l'estabilitat molecular i disminuint la proteòlisi i excreció renal. Aquest procés de *pegilació* ha estat utilitzat per altres proteïnes funcionals amb fins farmacològics (pegfilgrastim, etc.), per reduir la freqüència de dosificació.

La combinació (Xiapex®) de dos **colagenasas** del *Clostridium histolyticum*, que hidrolitzen el col·lagen i facilita el trencament enzimàtica de la banda o cordó de Dupuytren en hidrolitzar els col·làgens de tipus I i III, que constitueixen la majoria del col·lagen acumulat en aquesta localització i d'aquesta manera, la contractura de Dupuytren desapareix en pacients adults que presentin un cordó palpable.

La **toxina botulínica** és un altre exemple característic d'agent xenobiològico. La seva potent acció inhibidora de l'alliberament d'acetilcolina en la unió neuromuscular (es tracta de la substància amb major potència biològica coneguda), produeix una paràlisi temporal i localitzada en el múscul esquelètic. La recuperació d'aquesta paràlisi sembla implicar la regeneració de les terminacions nervioses de les fibres nervioses moto-

res (que innerven el múscul), restablint la connexió entre aquestes i la placa neuromuscular.

El bacteri *Clostridium botulinum* és capaç de produir fins a set tipus serològicament diferents de toxina botulínica: A, B, C, D, E, F i G (encara que només estan comercialitzades la A i la B). Totes elles són potents agents paralitzants, de manera que qualsevol d'elles pot ser utilitzada en els nombrosos finalitats terapèutiques per als que han estat autoritzats els diversos medicaments amb toxina botulínica comercialitzats: blefaroespasme, espasme hemifacial, torticoli espasmòdica, espascticidad associada a paràlisi cerebral ja ictus, hiperhidrosi primària i les cosmètiques *arrugues facials*.

El **surfactant pulmonar** és una barreja de substàncies, principalment fosfolípids i proteïnes específiques, que entapissen la superfície interna dels alvèols i són capaços de disminuir la tensió superficial. Està autoritzat (hi ha dos, un d'origen boví i un altre porcí) per a la síndrome de distrés respiratori neonatal.

La **ziconotida** és un anàleg sintètic d'un ω -conopèptid, el MVIIA, present en el verí d'un cargol marí piscívoro (*Conus magus*). Es tracta d'un potent analgèsic emprat en dolor crònic greu, que actua com a bloquejant reversible, selectiu i d'alta afinitat sobre els canals de calci de tipus N sensibles al voltatge (CCN), provocant la inhibició del corrent sensible al voltatge en les vies aferents nociceptives principals que acaben en les capes superficials de l'asta dorsal de la medul·la espinal. Amb això, es bloqueja l'alliberament dels neurotransmissors corresponents, incloent-hi la substància P, impedint per tant la senyalització medul·lar del dolor. S'administra intratecalmente.

Hi ha diversos extractes al·lergènics estandarditzats. Entre els últims comercialitzats es troben els dels àcars de la pols domèstica *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae*, indicat en pacients adults diagnosticats per la seva història clínica i prova positiva de sensibilització, que presentin rinitis al·lèrgica o asma al·lèrgica per àcars de la pols domèstica.

IV. Biofàrmacs amb finalitat diagnòstica funcional

Hi ha fàrmacs que són susceptibles de facilitar el diagnòstic de nombroses patologies, especialment d'aquelles per a les que existeixen particulars limitacions pel que fa a informació clínica objectiva a partir d'una anamnesi. Això és cert sobretot en el cas de determinats trastorns funcional. D'altra banda, no només és important determinar el seu origen en aquests últims, sinó també poder quantificar el fenomen i valorar la pròpia resposta orgànica davant l'administració de determinades substàncies, tot això com una informació especialment rellevant per poder prevenir, guarir, limitar el progrés o pal·liar els efectes la malaltia. En aquest sentit, la utilització de diversos medicaments amb fins diagnòstics funcionals permet obtenir una informació veritablement determinant en nombrosos pacients. A tall d'exemple, cal mencionar, entre d'altres, la **somatropina**, la **somatorelina**, la **somatostatina**, la **desmopressina**, la **tuberculina**, la **tirotropina**, la **protirelina**, la **gonadorelina**, la **insulina**, etc.

Perspectives

Les proteïnes fisiològiques funcionals constitueixen una important font d'obtenció de medicaments fonamentals, gràcies a la producció d'anàlegs biotecnològics. Amb la generalització de la teràpia gènica, algunes d'elles deixaran de tenir rellevància, especialment per a les patologies associades a mutacions monogèniques, objectiu primari de la teràpia gènica. No obstant això, tot i això, la majoria seguirà exercint un paper decisiu en la terapèutica farmacològica durant les dècades vinents.

Bibliografia

- (1) Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. 2018. Bot PLUS (actualizado al 24 de abril de 2018)
- (2) Cuéllar Rodríguez S. 2017. Productos biológicos utilizados en enfermedades neoplásicas. En: *Trastornos oncológicos*. p. 121-175. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos; Madrid.
- (3) Cuéllar Rodríguez S. 2018. Perspectivas de la inmunoterapia del

cáncer. *Panorama Actual. Med.* 42(412): 273-303

- (4) Cuéllar Rodríguez S. Diagnóstico funcional farmacológico. En: *Terapéutica farmacológica de los trastornos dermatológicos, oftalmológicos y otológicos. Agentes farmacológicos de diagnóstico*. Madrid: Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos; 2014. p. 267-98.

7.2. Anticossos monoclonals

Antoni Iborra

Els medicaments convencionals s'obtenen a partir de processos químics, fàcilment estandarditzables, que permeten la producció massiva sota un rigorós control de qualitat. Aquest és un procés comú en la indústria farmacèutica. Una segona estratègia de fabricació de medicaments és a través de processos biològics que permeten l'obtenció de substàncies produïdes per organismes vius com bactèries, paràsits o cèl·lules per poder desenvolupar el medicament biològic. És en aquest cas, que parlem de medicaments biotecnològics.

Els anticossos monoclonals (mAbs) formen part d'aquests medicaments biotecnològics sigui quina sigui la metodologia emprada per a la seva obtenció: des de l'obtenció d'hibridomes descrita per Köhler i Milstein a l'any 1975 (1), o els que pertanyen a la segona generació (quimèrics i humanitzats), o els que pertanyen a la tercera generació (mAbs obtinguts per phage display, o la utilització d'animals transgènics), o anticossos modificats per conjugar diferents substàncies o drogues.

El valor global del mercat d'anticossos és aproximadament 20000 mil milions de dòlars per any (2). Actualment, més de 30 mAbs estan aprovats per la FDA per al seu ús en humans per al tractament diverses malalties que inclouen: càncer, inflamació crònica malalties, trasplantaments, malalties infeccioses i cardiovasculars malalties. Aquests mAbs, són resultat d'un procés molt més complex que l'utilitzat per a la generació dels medicaments químics, són conseqüència de la utilització i modificació d'un organisme viu per a que "fabriqui" una substància que naturalment no fabricaria.

El desenvolupament de nous mAbs és una via de recerca i inversió estratègica de les grans empreses biofarmacèutiques. Actualment, 27 empreses biotecnològiques estan desenvolupant més de 250 mAbs que es troben en diverses etapes de desenvolupament, però un gran percentatge encara es troben en moments molt inicials de Fases I i II de desenvolupament. Més de la meitat (55%) estan destinats el tractament del càncer,

mentre que el 32% es dirigeix a trastorns immunològics i inflamatoris, i el 13% es desenvolupen per al tractament de malalties infeccioses, cardiovasculars, i altres malalties. Hi ha una relativa taxa d'èxit (23%) per al desenvolupament del mAb, amb notable èxit per a la seva utilització en trastorns immunològics i inflamatoris (24%) i sobre el càncer (14%) si ho comparem amb les taxes d'èxit de noves entitats químiques (NCE) en general i per a NCEs per a oncologia es registra un 11% i un 5%, respectivament (3).

El desenvolupament de un mAb és llarg i costós. Una vegada s'inicia el seu escalat al laboratori, la producció massiva d'anticòsés molt complicada i aquesta s'ha de realitzar sota un rigorós control de qualitat que permeti avaluar els diferents lots del mAb generat. A l'actualitat, existeix una forta corrent d'investigadors que reclamen una correcta validació dels anticossos que s'utilitzen en recerca. Molts dels anticossos comercials que s'utilitzen per a recerca no estan ben validats i els resultats generen grans pèrdues econòmiques (4,5). Podem afirmar que la validació dels mAbsés un camí a recórrer en els propers anys, creant procediments estandarditzats que permetin disposar d'anticossos específics i validats per recerca.

D'igual manera, l'escalat industrial, que permetrà disposar de les quantitats adequades de mAb per utilitzar-se com eina terapèutica, pot produir diferències en la qualitat de l'anticòs resultants, en funció dels mètodes d'escalat utilitzat i diferents processos com el creixement, les possibles modificacions de l'anticòs, la purificació dels anticossos (6) requerirà de procediments ben establerts i controlats que permetin avaluar i garantir la qualitat dels diferents lots de mAb produïts, així com la seva funcionalitat a mesura que canviï la manera en que es generen els lots de mAb. Aquesta estratègia ha de permetre optimitzar i abaratir els costos de producció dels diferents anticossos que s'estan utilitzant (7).

Malgrat el seu èxit, la teràpia basada en anticossos encara presenta una llarga llista d'importants deficiències que cal superar en el futur per explotar plenament el seu potencial terapèutic. Desavantatges típics en anticossos terapèutics inclouen aspectes com una eficàcia limitada en la penetració tumoral, deguda moltes vegades a la natura del propi teixit, a resultats de baixa eficàcia *in vivo* del tractament, les dificultats pròpies de l'administració al pacient en el temps, l'agregació d'anticossos, la so-

lubilitat i elevats costos de producció (8). Són prometedors els desenvolupaments recents per millorar la potència i l'eficàcia dels mAbs, per tal d'aconseguir la prescripció de dosis més baixes reduint potencialment els costos. Hi ha diversos enfocaments, com l'eliminació dels llocs de glicosilació del domini variable de l'anticòs per tal de millorar la funció efectora dels mAbs, com la citotoxicitat mediada per cèl·lules dependent dels anticossos (ADCC), que modulen l'activació de cèl·lules immunes innates del pacient per matar una cèl·lula diana com el càncer (9,10).

L'ús de enginyeria d'anticossos ha de permetre, en el futur més proper, millorar les propietats dels anticossos terapèutics existents. A les darreres dècades s'han generat tot un conjunt de nous formats dels mAb que ofereixen millores per a la recerca i finalitat terapèutica. Sovint ens referim a aquestes noves molècules amb el terme "*biobetter antibodies*", o anticossos de pròxima generació, i inclouen anticossos dissenyats per a funcions efectores millorades, mAbs modificats amb la unió de fàrmacs (Antibody Drug Conjugate, ADC), anticossos multiespecífics i fragments d'anticossos de domini únic (nanobodies) (11-13).

Un tema que guanyarà importància en els propers anys és la presència de nous biosimilars, a partir dels mAbs ja establerts una vegada finalitza la protecció de les patents. La sortida al mercat d'aquests biosimilars ha de permetre abaratir els costos que comporta l'administració de mAbs com agents terapèutics (14,15), però, en el futur, caldrà que el col·lectiu mèdic s'enfronti a qüestions com si és clínicament adequat canviar el tractament, amb el producte de referència, als pacients clínicament estables, a un nou biosimilar disponible, o des d'un biosimilar a un altre. Serà necessari un seguiment dels diferents mAbs que s'hagin generat a partir de l'original(16). Per alguns mAbs, com trastuzumab o cetuximab, a més dels mAb originals ja hi han les seves versions biosimilars, *biobetter*, i de nova generació amb modificacions (17).

Des del disseny i descobriment d'una molècula, fins a la seva comercialització poden passar molts anys, fins a 15 anys aproximadament, i comporta la participació de diferents agents del sistema de R+D+I. Des del descobriment i disseny, moltes vegades a través de recerques bàsiques de centres universitaris o centres d'investigació independents, als estudis preclínics, que comporten una forta inversió que només industries multinacionals del camp farmacèutic poden realitzar. Aquest fet fa que

ningun medicament biotecnològic es pugui obtenir de manera similar a un altre, i que sigui necessaris el seguiment dels estudis clínics. Des del descobriment a la comercialització, la inversió total pot ser superior als 1000 milions d'euros. En el futur la transversalitat dels diferents participants serà clau en el desenvolupament de noves i millors eines terapèutiques, per no parlar de la utilització dels mAbs en sensors cada vegada més específics i sensibles que permetin un ràpid i acurat diagnòstic (18) i que contribueixin igualment a tractar les patologies amb millor pronòstic així com a l'abaratiment dels tractaments a administrar.

Bibliografia

- (1) Köhler G., Milstein C., 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256 (5517), 495–497.
- (2) Yamada T. Therapeutic monoclonal antibodies. *Keio J Med* 2011;37–46.
- (3) Meyer-Tamaki KB., 2017. A comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development. Second Edition 617-645. *Academic Press*, Michigan.
- (4) Bradbury A., Plückthun A.2015. Reproducibility: Standardize antibodies used in research. *Nature*, 518 (7537) :27.
- (5) Baker M. 2015. Antibody anarchy: A call to order. *Nature* ,527: 545–551.
- (6) Girard V., Hilbold NJ, Ng CKS., Pegon L., Chahim W., Rousset F., Monchois V.2015. Large-scale monoclonal antibody purification by continuous chromatography, from process design to scale-up. *Journal of Biotechnology* 213: 65–73.
- (7) Tripathi NK., Shrivastava A. 2018. Nanoscale Fabrication, Optimization, Scale-Up and Biological Aspects of Pharmaceutical Nanotechnology. Chapter 4: Scale up of biopharmaceuticals production. Pages 133-172 *Elsevier* . Bucarest.
- (8) Chames P., Van Regenmortel M., Weiss E., Baty D. 2009. Therapeutic antibodies: successes, limitations and hopes for the future, *Br. J. Pharmacol.* 157: 220–233.

- (9) Quinteros DA., Bermúdez JM., Ravetti S., Cid A., Allemandi DA., Palma SD. 2017. Therapeutic use of monoclonal antibodies: General aspects and challenges For drug delivery. Nanostructures for Drug Delivery. Chapter 25: 807-833. *Elsevier Inc.* Bucarest.
- (10) Elgundi Z., Reslan M., Cruz E., Sifniotis V., Kayser V. The state-of-play and future of antibody therapeutics. 2017. Advanced Drug Delivery Reviews 122: 2–19.
- (11) Niwa R., Satoh M. 2015. The current status and prospects of antibody engineering for therapeutic use: focus on glycoengineering technology, J. Pharm. Sci. 104:930–941.
- (12) Evans JB., Syed BA. 2014. From the analyst's couch: next-generation antibodies, Nat.Rev. Drug Discov. 13: 413–414.
- (13) Krishnamurthy A., Jimeno A. 2018. Bispecific antibodies for cancer therapy: A review. Pharmacology and Therapeutics 185:122–134
- (14) Beck A., 2011. Biosimilar, biobetter and next generation therapeutic antibodies. mAbs 3(2): 107–110.
- (15) Emmanouilides CE., Karampola MI., Beredima M. 2016. Biosimilars: hope and concern. J. Oncol. Pharm. Pract. 22 (4), 618–624.
- (16) Declerck P., Bakalos G., Zintzaras E., Barton B., Schreitmüller Th. 2018. Monoclonal Antibody Biosimilars in Oncology: Critical Appraisal of Available Data on Switching Clinical Therapeutics 40(5):798-809.
- (17) Beck A., Sanglier-Cianfrani S., Van Dorsselaer A. 2012. Biosimilar, Biobetter, and Next Generation Antibody Characterization by Mass Spectrometry . Anal. Chem. 84 (11):4637–4646.
- (18) Sharma S., Byrne H., O'Kennedy RJ. Antibodies and antibody-derived analytical biosensors. 2016. Essays in Biochemistry. 60:9–18.

7.3. Perspectives de la immunoteràpia del càncer (*)^a

Santiago Cuéllar Rodríguez

Com passa amb les cèl·lules normals, les cèl·lules tumorals expressen proteïnes amb caràcter antigènic —antígens tumorals— en la seva membrana que poden ser reconeguts com estranys pel sistema immune. Això pot ajudar a entendre com certs tumors experimenten una regressió espontània sense tractament i, al mateix temps, està permetent desenvolupar estratègies per modular les respostes immunes antitumorals. Les immunoteràpies contra el càncer que exploten aquesta capacitat constitueixen un canvi de paradigma en el tractament del càncer, produint èxits on les teràpies convencionals contra el càncer - basades en la destrucció no selectiva de cèl·lules amb alta taxa de proliferació - fracassen. Els avenços en aquest camp són continus, centrant-se fonamentalment en la caracterització dels antígens dirigits per la immunitat antitumoral i l'aprenentatge corresponent per dissenyar immunoteràpies específiques de major benefici clínic. Els mecanismes pels quals el sistema immune reacciona davant les cèl·lules tumorals suposen una intricada xarxa d'esdeveniments que impliquen tant el sistema immune innat com el adaptatiu, iniciat per la captació, processament i presentació d'antígens tumorals per cèl·lules presentadores d'antigen (APC) , seguit per encabat i activació de limfòcits T i concloent amb la infiltració de limfòcits T effectors al lloc del tumor on exerceixen la seva activitat citotòxica; tot la qual cosa desemboca potencialment en l'eliminació del tumor. No obstant això, les cèl·lules tumorals també són capaces de desenvolupar mecanismes d'escapament o evasió —immunoevasió— enfront de l'acció del sistema immunològic; per pal·liar-los, s'han anat desenvolupant diversos enfocaments terapèutics que actuen en diferents etapes de la cascada del procés immunològic antitumoral. Bàsicament, es poden dividir en dos grans grups; d'una banda, la immunoteràpia a base de **citocines** o altres molècules immunomoduladores, que poden potenciar l'activitat general del sistema immunològic; de l'altra, les teràpies que provoquen una resposta immunitària específica *in vivo* o l'ús de cèl·lules immunitàries del propi pacient estimulades i conreades (desplegades) *ex*

(*) Aquest apartat és un resum de l'article: Cuéllar Rodriguez S. Perspectives de la immunoteràpia del càncer. *Panorama Actual Med* 2018; 42 (412): 273-303.

vivo que posteriorment són reintroduïdes en el pacient.

A continuació revisem de forma breu alguns dels principals agents utilitzats o en fase d'estudi en l'àrea de la immunoteràpia del càncer.

Citocines

Les citocines - especialment, determinades interleucines - juguen un paper crucial en l'estimulació i regulació de la resposta immunitària enfront dels antígens, però el seu ús directe en clínica és molt limitat a causa dels greus efectes tòxics relacionats amb la seva naturalesa pleiotrópica i sovint doble funció en estimular i suprimir simultàniament la resposta immune a diferents nivells, tal com passa amb la interleucina 2 (IL-2), emprada en clínica com **aldesleukina** (Proleukin®) per al tractament del carcinoma metastàtic de cèl·lules renals. També s'ha estudiat l'administració directa de **interleucina 12** (IL-12) mitjançant nanopartícules de quitosà, donada la condició de la IL-12 i ser una potent citocina proinflamatòria que potencia la diferenciació dels limfòcits *facilitadors Th1*, la proliferació de limfòcits T activats i de cèl·lules NK i la immunitat mediada per cèl·lules.

Virus oncolítics

Els virus oncolítics són virus modificats genèticament amb capacitat per infectar totes les cèl·lules però que només es repliquen en les cèl·lules tumorals, acumulant-se en gran quantitat dins d'aquestes i s'alliberen de manera massiva, provocant la mort selectiva de la cèl·lula tumoral. La oncolisis pot ser una propietat natural del virus, com passa amb alguns *Reovirus*, o una conseqüència de la manipulació del genoma viral, per al que sol tirar-se mà habitualment dels *Adenovirus*. Aquesta propietat ha permès desenvolupar la viroteràpia oncolítica —l'ús de virus actius amb capacitat replicant— per al tractament de determinades formes de càncer. Un exemple d'aquesta estratègia va ser el **talimogene laherparepvec** (Imlygic®; T-VEC), una variant de virus de l'*Herpes simplex* de tipus 1 (HSV-1) genèticament modificada, que va ser autoritzat als Estats Units (FDA) i la Unió Europea (EMA) el 2015 per tractar adults

amb un determinat tipus de melanoma. Així mateix, les combinacions de virus oncolítics amb fàrmacs immunomoduladors o anticossos que reacondicionen el microambient tumoral han demostrat ser molt prometedors, així com les combinacions amb altres règims inmunoterapèuticos, com les cèl·lules T CAR. Finalment, els virus oncolítics s'han combinat amb agents actius sobre senyalització bioquímica (inhibidors de tirosina cinasa, etc.), mostrant una eficàcia antitumoral notable.

Bacteris

Els bacteris presenten característiques molt útils per a ser utilitzades com a teràpia antitumoral. D'una banda, la relativament fàcil manipulació del seu material genètic permet realitzar modificacions perquè puguin produir toxines que destrueixin unes cèl·lules tumorals o produir factors que augmentin l'activitat del sistema immune antitumoral del pacient, així com també poden actuar com a transport d'altres estructures antitumorals , com els àcids ribonucleicos sintètics d'interferència (siRNA) o els virus oncolítics ja esmentats. S'està estudiant actualment una teràpia personalitzada coneguda com **pLADD**, basada en una soca de *Listeria monocytogenes* doblement suprimida (LADD, *Listeria monocytogenes doubled- deleted*), viva i atenuada, que ha estat dissenyada per codificar múltiples neoantígenos específics de tumors. La plataforma LADD és un enfocament atractiu per a la immunoteràpia personalitzada causa de la ràpida modificació i alliberament de soques clíniques. A més, s'ha establert el seu perfil clínic de seguretat i eficàcia en nombrosos pacients, i s'ha mostrat una robusta activació de la immunitat innata i el remodelat del microambient tumoral en models preclínics i en pacients.

Anticossos selectius antitumorals

S'han desenvolupat anticossos portadors de toxines que indueixen la mort cel·lular, on l'anticòs té com a missió afavorir l'ingrés selectiu de la toxina a la cèl·lula tumoral per exercir el seu efecte. Per exemple, el **brentuximab vedotina** (Adcetris[®]) és un anticòs monoclonal conjugat amb un agent citotòxic (vedotina) que és capaç de provocar l'apoptosi específicament de cèl·lules que presentin la proteïna CD30 a la superfí-

cie. Ha estat autoritzat per al tractament de pacients adults amb limfoma de Hodgkin CD30 + en recaiguda o refractari. Un altre exemple és el **trastuzumab emtansina** (Kadcyla®) un conjugat d'un anticuerpo dirigít contra HER2 (trastuzumab), unit mitjançant enllaç covalent a l'inhibidor microtubular DM1 (emtansina). El medicament està indicat per al tractament com a agent únic de pacients adults amb càncer de mama HER2 positiu localment avançat irresecable o metastàtic, que han rebut prèviament tratuzumab i un taxano per separat o en combinació.

Una variant dels conjugats anteriors és la radioimmunoterapia (Rait), que consisteix a incorporar un radionúclid emissor de radiació ionitzant letal però de curt radi d'influència (mil·límetres o centímetres) a un anticòs dirigít contra un antigen específic d'un tumor. L'efecte tumoricida s'aconsegueix per una baixa però contínua dosi de radiació. Ja hi ha fàrmacs d'aquest tipus autoritzats, com el **ibritumomab tiuxetan itri** (Zevalin®), un anticòs monoclonal recombinant murí tipus IgG1 kappa específic per l'antigen CD20 de les cèl·lules B, lligat a itri radioactiu; està indicat per al tractament de consolidació després de la inducció de la remissió en pacients amb limfoma fol·licular no tractats anteriorment; així mateix, està indicat per al tractament de pacients adults amb limfoma no Hodgkin (LNH) fol·licular de cèl·lules B CD20 + en recaiguda o refractari a rituximab.

Cèl·lules Tumorals Circulants (CTC)

Les cèl·lules tumorals circulants (*circulating tumor cells*; CTC) són cèl·lules canceroses que es desprenen del tumor primari i després d'entrar al torrent sanguini s'aturen a llocs distals per iniciar la metàstasi del càncer. Tot i que la seva primera notícia es remunta 1869, en realitat l'interès derivat de l'aïllament d'aquestes cèl·lules només s'ha reactivat al segle XXI. Els motius d'aquest relatiu abandomen estan clarament relacionats amb els desafiaments tècnics que suposen la detecció i l'aïllament d'aquestes cèl·lules, lligada a la seva extraordinària heterogeneïtat i al seu no menys excepcional escassetat: un CTC entre un i mil milions de cèl·lules sanguínies normals. En aquest sentit, s'han anat desenvolupant- encara amb caràcter preliminar -algunes estratègies com aïllar CTC dels productes de leuoceràfesis, per tal de poder utilitzar volums de sang molt més grans (al voltant de 10L) que el comunament utilitzat

per a l'anàlisi de CTC (5-10 ml) o, alternativament, altres grups estan desenvolupant productes d'enginyeria tissular basats en **bastides implantables** (*implantable scaffolds*) que són capaços de capturar i atrapar CTC, amb ajuda de sembres cel·lulars o adjuvants per modular l'entorn immune dins la bastida.

Teràpia cel·lular somàtica anticancerosa

La utilització de teràpia cel·lular somàtica en oncologia ja era objecte d'investigació intensiva fa més d'una dècada. En concret, la renovació de les cèl·lules mare ha estat utilitzada àmpliament en el tractament de leucèmies i limfomes. Cèl·lules mare hematopoètiques amb capacitat per a diferenciar-se en els diferents tipus cel·lulars sanguinis, han estat utilitzades en conjunt amb quimioteràpia per tal de reduir hematotoxicitat d'aquesta última.

La importància de la teràpia antitumoral cel·lular somàtica ha adquirit un inusitat protagonisme terapèutic, atès que els espectaculars avenços produïts en la farmacologia antineoplásica s'han vist frenats pel fet que freqüentment és difícil obtenir una alta concentració intratumoral dels fàrmacs, a causa de la falta de selectivitat, que deriva en l'aparició d'efectes adversos inacceptables.

Un fàrmac antineoplàstic ideal hauria de disposar d'un vehicle terapèutic que li permetés arribar específicament al tumor, després de sortir fàcil i ràpidament del torrent sanguini, i no presentar problemes d'immunitat. Aquestes condicions poden ser complertes satisfactòriament per alguns tipus cel·lulars del propi pacient. En aquest sentit s'han utilitzat leucòcits de sang perifèrica cultivats amb IL-2 per obtenir limfòcits activats. S'han realitzat assajos clínics combinant l'administració d'interleucina 2 i de limfòcits activats, observant que els efectes antitumorals s'han correlacionat amb la dosi de IL-2 i el nombre de cèl·lules administrades.

D'altra banda, els limfòcits que infiltren els tumors tenen una activitat única antitumoral i poden ser expandits *ex vivo* també amb IL-2. Aquestes cèl·lules s'han utilitzat ja en teràpies immunomoduladores, especialment amb melanomes, obtenint-respostes parcials clíiques en els pacients tractats amb la infusió d'aquests limfòcits.

Altres exemples de projectes d’investigació en curs són la utilització de cèl·lules tumorals com a vehicles terapèutics, o l’ús de cèl·lules mare mesenquimals (mesenchymal stem cells, MSC) activades perquè produeixin interferó gamma.

Teràpia Cel·lular Adaptativa

La transferència o teràpia cel·lular adaptativa (*adoptive T Cell therapy; ACT*) és un tipus de immunoteràpia experimental. Un dels seus mètodes consisteix a extreure les cèl·lules T citotòxiques que han envaït el tumor del pacient, conegeudes com **limfòcits infiltrats en el tumor**. Es seleccionen les cèl·lules amb major activitat antitumoral, es conreen —s’expandeixen— grans poblacions d’aquestes cèl·lules al laboratori i s’activen amb citocines. El següent pas és tornar a administrar les cèl·lules al pacient. L’evident objectiu del procediment és que, si les cèl·lules tumorals suprimeixen l’activitat dels limfòcits infiltrats en el tumor que són generats de forma natural, seria possible contraestar aquesta supressió exposant al tumor a quantitats massives de limfòcits infiltrants activats.

Alternativament, especialment per a aquells tipus de càncers en els quals limfòcits T específics antitumorals són menys espontanis, els limfòcits T poden expandir-se a partir de cèl·lules T modificades genèticament pel pacient que expressen un receptor de cèl·lules T específic de tumor (*T cell receptor, TCR*) o un TCR quimèric (híbrid) compost d’una fracció d’immunoglobulina (Ig) sintètica fusionada amb els components de senyalització TCR, anomenat **receptor CAR** (*chimeric antigen receptor; CAR*). Les proteïnes CAR faciliten la unió de les cèl·lules a unes proteïnes específiques en la superfície de les cèl·lules canceroses, la qual cosa activa a les cèl·lules T per atacar-les. I aquest és el fonament de la **teràpia amb cèl·lules T i CAR** (TCAR).

Vacunes anticanceroses

Les vacunes anticanceroses són substàncies capaces d’estimular o restaurar la capacitat del sistema immunitari per prevenir, detectar i eliminar cèl·lules tumorals, d’igual manera que les vacunes tradicionals ajuden a prevenir les infeccions produïdes per microorganismes. D’acord amb això, es poden distingir dos tipus essencials de vacunes anticanceroses:

- **Vacunes preventives (profilàctiques).** Dirigides a activar el sistema immune perquè destrueixi a agents biològics (principalment virus) que estan estretament relacionats amb la inducció de determinats tipus de càncer, com passa amb determinats genotips del virus de papilloma humà (VHP) i el càncer de coll d'úter, o del virus de l'hepatitis B i el carcinoma hepàtic. Per tant, són vacunes que s'administren a persones sanes, abans que desenvolupin càncer.
- **Vacunes terapèutiques.** Dirigides a potenciar selectivament - fins i tot personalment - la resposta immune enfront de determinades formes de càncer. Generalment, estan concebudes perquè activin les cèl·lules T citotòxiques i per adreçar-les a que reconeguin i actuïn contra tipus específics de càncer o per induir la producció d'anticossos que s'uneixin a les molècules en la superfície (antígens) de les cèl·lules canceroses.

7.4. Aplicacions biomèdiques dels oligonucleòtids

Carlos J. Ciudad

Aquest apartat té l'objectiu de revisar els diferents tipus d'oligonucleòtids més utilitzats (antisentit, antagonirs, de salt d'exó, siRNAs, decoys, aptàmers, TFOs, PPRHs) en relació amb les seves aplicacions més comuns.

1. Oligonucleòtids antisentit

Els oligonucleòtids antisentit són molècules de DNA amb una seqüència que és complementaria i antiparal·lela, és a dir en orientació inversa, a la de l'RNA que es vol inhibir, i a la qual s'uneix per enllaços de Watson i Crick (W:C). Per evitar la seva degradació, mitjançant nucleases cel·lulars, els oligonucleòtids poden modificar-se químicament. La modificació més freqüent és la fosfotioat (PS), però també són freqüents les següents: LNAs (locked nucleic acid), metil citidina, morfolinos i PNAs (peptide nucleic acid). Qualsevol modificació, però, pot representar un decrement o “penalty” en l'afinitat en la hibridació de l'oligonucleòtid a la seva diana.

Els oligonucleòtids antisentit es poden utilitzar com a silenciadors gènics, o inhibidors de l'expressió gènica, tot inhibint la traducció de l'RNA a proteïna i estimulant l'activitat de la RNAsa H que degrada a l'RNA. Això és degut a que la RNAsa H s'activa per la presència d'he teroduplexes DNA/RNA, ja que un oligonucleòtid antisentit està format per una seqüència de DNA que s'hibrida a l'mRNA diana. Si bé es poden dissenyar oligonucleòtids contra qualsevol regió de l'RNA, les més efectives són aquelles dirigides contra la zona de l'inici de la traducció, ja que en aquesta localització l'oligonucleòtid competirà amb l'inici de la traducció pel ribosoma. Exemples d'oligonucleòtids antisentits aprovats per la FDA són Fomivirsen (1) (2) contra la retinitis induïda per citomegalovirus, ara retirat del mercat, i Mipomersen (també anomenat Kynamro) dirigit contra la apolipoproteïna B per reduir els nivells alts de colesterol (3).

2. Antagomirs

Quan els oligonucleòtids estan dirigits contra els micro-RNAs reben el nom d'Antagomirs i són utilitzats per neutralitzar l'acció dels miRNAs que constitueixen uns reguladors secundaris de l'expressió gènica, ja que modulen la traducció dels mRNAs generalment per unió a la zona 3'-UTR (untranslated region). D'aquesta manera, un antagomir podria activar l'expressió d'un gen per alliberament de la repressió que pugui exercir un miRNA sobre la traducció d'un determinat mRNA. Fins l'actualitat, només hi ha un compost, SPC3649 de Santaris Pharma, també anomenat Miravirsen (4) un inhibidor del micro-RNA miR-122, que ha entrat en assajos clínics contra el virus de l'hèpatitis C.

3. Oligonucleòtids de salt d'exó

Els oligonucleòtids també poden bloquejar de manera estèrica l'empalmament de l'RNA (splicing) i provocar salts d'exons (exon skipping). D'aquesta manera, per exemple, s'ha pogut restaurar la funcionalitat perduda per mutacions del gen de la distrofina tot provocant salts d'exons que restableixen el marc de lectura del gen i dona lloc a proteïnes més petites però funcionals. Aquest és el cas dels oligonucleòtids Eteplirsen (Exondys-51) (5) i Drisapersen (Kyndrisa) (de 30 nt) (6) dissenyats per produir un salt de l'exó 51. Només un d'ells (Eterplirsen) va ser aprovat per la FDA.

El desembre del 2016, la FDA va aprovar Spinraza (també anomenat Nusinersen) (7), un oligonucleòtid antisentit de 18 nt pel tractament de SMA (Atrofia Muscular Espinal) per inclusió de l'exó 7 del gen SMN1.

4. RNAs d'interferència

Així mateix els oligonucleòtids d'RNA formen part de les molècules silenciadores que constitueixen els siRNAs o RNAs d'interferència (RNAi) que també degraden i inhibeixen l'expressió gènica. Els RNAis o siRNAs són molècules formats per seqüències d'oligonucleòtids d'RNA de doble cadena hibridats per W: C de manera antiparal.lela.

Una de les cadenes és la guia o antisentit a la de l'RNA diana que es vol silenciar.

En els inicis de la utilització dels RNAi es van trobar diferents problemàtiques com ara una vida mitja curta deguda a la seva degradació per RNAsa A i aclariment renal. Així mateix es van observar toxicitats associades al vehicle utilitzat, a efectes inespecífics i especialment a respostes immunes per la seva naturalesa d'estar constituïts per RNA. Aquests fets van comportar que s'utilitzés bàsicament per retinitis ja que l'ull permet una fàcil aplicació local i està menys vascularitzat.

En l'actualitat s'ha avançat en mètodes de vehiculització per aplicació terapèutica en el teixit hepàtic liderats per Alnylam, i n'hi ha a prop de vint assajos clínics valorant la possible utilització d'RNAs d'interferència contra diferents dianes com ara VEGF, VEGFR1, HIF-1, p53, RRM2 i BCL-2 entre altres (8).

5. Oligonucleòtids com a competidors

Com a reactiu de Biologia Molecular, els oligonucleòtids de DNA en forma de doble cadena s'utilitzen com a sondes moleculars per investigar zones d'unió del DNA a proteïnes que regulen l'expressió gènica, com ara els factors de transcripció que s'uneixen als promotores dels gens cel·lulars. En aquest mateix sentit s'utilitzen com a competidors de zones d'unió de factors reguladors de transcripció o de factors de empalmament de l'RNA (decoys) (9).

6. Oligonucleòtids com a anticossos

D'altra banda, els oligonucleòtids, degut a la seva conformació dependent de la seva seqüència, poden unir-se a pràcticament qualsevol lligand, en aquest cas se'ls anomena aptàmers i funcionen com si fossin d'anticossos però que estan formats per polímers d'àcids nucleics en contes d'aminoàcids.

Macugen, també anomenat Pegaptanib, és un aptàmer desenvolupat contra VEGF mitjançant l'estratègia de SELEX (*systematic evolution*

on of ligands by exponential enrichment) inventada per Craig Tuerk & Larry Gold (10).

7. Vehiculització

Una gran part dels oligonucleòtids antisentit entren a la cèl.lula per endocitosi i és acumulada en endosomes dels quals han d'escapar per passar al citosol. Lípids i polímers s'utilitzen per vehiculitzar i desestabilitzar la membrana i la barrera que formen tot alterant el pH endosomal.

Hi ha diferents metodologies per facilitar la vehiculització dels oligonucleòtids terapèutics, que inclouen nanopartícules lipídiques, polimèriques, conjugats, pèptids, aptàmers i anticossos , entre d'altres, així com nanoestructures de DNA.

En el cas d'anticossos, els oligonucleòtids antisentit es poden vehiculitzar mitjançant immunoliposomes com el que es va desenvolupar tot utilitzant un antisentit contra la DHFR, diana de l'atac amb Metotrexat (11) dirigit contra cèl.lules de càncer de mama que sobre-expressen la proteïna HER2 (12).

8. Enllaços de Hoogsteen: TFOs i PPRHs

Tots els anteriors oligonucleòtids s'uneixen a les seves dianes mitjançant els clàssics enllaços de Watson:Crick. Tanmateix, existeixen altres enllaços per ponts d'hidrogen que uneixen bases del DNA d'una manera no convencional, per exemple en el cas de purines- una A es pot unir amb altre A i una G amb una altre G, i que són anomenats enllaços d'Hoogsteen. Van ser descoberts per Karst Hoogsteen, un bioquímic nascut a Groningen el 1923 i emigrat als EEUU, que va col.laborar amb Linus Pauling a Caltech on va demostrar l'existència d'aquests enllaços alternatius el 1959 (13) i després va treballar a Merck, Sharp and Dohme. Les característiques d'aquest tipus d'enllaç Hoogsteen fa que les cadenes d'àcids nucleics es puguin lligar a duplexes per formar triplexes com els que formen els TFOs (Triplex forming oligonucleotides) i fins i tot quadruplexes (G-quadruplexes).

Els TFOs estan constituïts per una cadena senzilla de DNA que es lliga per Hoogsteen a dues cadenes que estan formant un duplex mitjançant W:C i s'han emprat per inhibir la unió de factors de transcripció. En aquest sentit s'han desenvolupat TFOs dirigits contra els gens neu i c-myc com a eines terapèutiques en càncer de mama i de colon (14).

D'altra banda les pinces de polipurines o PPRHs (PolyPurineReverse Hoogsteen) són duplexes o forquilles intramoleculars de polipurines formades per enllaços d'Hoogsteen que poden formar un triplex amb les cadenes de polipirimidines del DNA genòmic a pH fisiològic, desplacen la quarta cadena del DNA (15), de manera que s'obre el DNA genòmic i s'inhibeix la transcripció o l'empalmament de l'RNA (16)(17) i en conseqüència l'expressió gènica. Els PPRHs s'han assajat contra gens de proliferació i càncer com ara telomerasa, topoisomerasa, mdm2, myc, mTOR, incloent gens antiapoptòtics com Bcl-2 i survivina (18)(19) i gens involucrats en immunoteràpia com SIRP-alfa i CD47 (20). En tots els casos, els PPRHs han demostrat una gran eficiència tant *in vitro* com *in vivo*, tal com es va determinar en un model de xenograft de cè.l.lules de càncer de pròstata i que va constituir la prova de principi d'aquestes molècules. Els PPRHs tenen una eficiència 10 vegades superior a la dels oligonucleòtids antisentit i funcionen en un rang de concentracions similar a la dels siRNAs sense presentar immunogenicitat (21). La seva estabilitat és 10 vegades superior a la dels siRNAs amb un cost econòmic 10 vegades inferior, i la seva afinitat és superior a la dels TFOs (22).

9. Futur dels Oligonucleòtids

Futur optimista degut al desenvolupament al llarg dels últims 30 anys de diferents tipus de molècules amb capacitat silenciadora de l'expressió gènica: Antisentits, siRNAs, aptàmers, TFOs, PPRHs, on s'ha avançat en la especificitat, estabilitat, i disminució de la immunogenicitat.

El repte està en una vehiculització òptima d'aquests tipus de molècules, tant per l'entrada a les cè.l.lules, la direccionalització específic-tissular, com per la alliberació dels oligonucleòtids a nivell intracel.lular perquè puguin exercir la seva acció en la diana terapèutica seleccionada.

Bibliografia

- (1) de Smet MD, Meenken C, van den Horn GJ: **Fomivirsen – a phosphorothioate oligonucleotide for the treatment of CMV retinitis.** *Ocul Immunol Inflamm* 1999, **7**:189–198.
- (2) Roehr B: **Fomivirsen approved for CMV retinitis.** *J Int Assoc Physicians AIDS Care* 1998, **4**:14–6.
- (3) Furtado JD, Wedel MK, Sacks FM: **Antisense inhibition of apoB synthesis with mipomersen reduces plasma apoC-III and apoC-III-containing lipoproteins.** *J Lipid Res* 2012, **53**:784–791.
- (4) Janssen HLA, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, van der Meer AJ, Patick AK, Chen A, Zhou Y, Persson R, King BD, Kauppinen S, Levin AA, Hodges MR: **Treatment of HCV Infection by Targeting MicroRNA.** *N Engl J Med* 2013, **368**:1685–1694.
- (5) Cirak S, Arechavala-Gomeza V, Guglieri M, Feng L, Torelli S, Anthony K, Abbs S, Garralda ME, Bourke J, Wells DJ, Dickson G, Wood MJ, Wilton SD, Straub V, Kole R, Shrewsbury SB, Sewry C, Morgan JE, Bushby K, Muntoni F: **Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: An open-label, phase 2, dose-escalation study.** *Lancet* 2011, **378**:595–605.
- (6) van Deutekom JC, Janson AA, Ginjaar IB, Frankhuizen WS, Aartsma-Rus A, Bremmer-Bout M, den Dunnen JT, Koop K, van der Kooi AJ, Goemans NM, de Kimpe SJ, Ekhart PF, Venneker EH, Plattenburg GJ, Verschuuren JJ, van Ommen G-JB: **Local Dystrophin Restoration with Antisense Oligonucleotide PRO051.** *N Engl J Med* 2007, **357**:2677–2686.
- (7) Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, Iannaccone ST, Montes J, De Vivo DC, Norris DA, Bennett CF, Bishop KM: **Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMN Rx) in children with spinal muscular atrophy.** *Neurology* 2016, **86**:890–897.
- (8) Crooke ST, Witztum JL, Bennett CF, Baker BF: **RNA-Targeted Therapeutics.** *Cell Metabolism* 2018:714–739.

- (9) Klein JD, Sano D, Sen M, Myers JN, Grandis JR, Kim S: **STAT3 oligonucleotide inhibits tumor angiogenesis in preclinical models of squamous cell carcinoma.** *PLoS One* 2014, **9**.
- (10) Tuerk C, Gold L: **Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase.** *Science* 1990, **249**:505–510.
- (11) Rodríguez M, Noé V, Alemany C, Miralles A, Bemi V, Caragol I, Ciudad CJ: **Effects of anti-sense oligonucleotides directed toward dihydrofolate reductase RNA in mammalian cultured cells.** *Int J Cancer* 1999, **81**:785–92.
- (12) Rodríguez M, Coma S, Noé V, Ciudad CJ: **Development and effects of immunoliposomes carrying an antisense oligonucleotide against DHFR RNA and directed toward human breast cancer cells overexpressing HER2.** *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 2002, **12**:311–25.
- (13) Hoogsteen K: **The crystal and molecular structure of a hydrogen-bonded complex between 1-methylthymine and 9-methyladenine.** *Acta Crystallogr* 1963, **16**:907–916.
- (14) Boulware SB, Christensen LA, Thames H, Coghlan L, Vasquez KM, Finch RA: **Triplex-forming oligonucleotides targeting c-MYC potentiate the anti-tumor activity of gemcitabine in a mouse model of human cancer.** *Mol Carcinog* 2014, **53**:744–752.
- (15) Coma S, Noé V, Eritja R, Ciudad CJ: **Strand displacement of double-stranded DNA by triplex-forming antiparallel purine-hairpins.** *Oligonucleotides* 2005, **15**:269–83.
- (16) de Almagro MC, Coma S, Noé V, Ciudad CJ: **Polypurine hairpins directed against the template strand of DNA knock down the expression of mammalian genes.** *J Biol Chem* 2009, **284**.
- (17) de Almagro MC, Selga E, Thibaut R, Porte C, Noé V, Ciudad CJ: **UDP-glucuronosyltransferase 1A6 overexpression in breast cancer cells resistant to methotrexate.** *Biochem Pharmacol* 2011, **81**:60–70.
- (18) Rodríguez L, Villalobos X, Dakhel S, Padilla L, Hervas R, Hernández JL, Ciudad CJ, Noé V: **Polypurine reverse Hoogsteen hairpins as a gene therapy tool against survivin in human prostate cancer**

PC3 cells in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 2013, **86**.

- (19) Villalobos X, Rodríguez L, Solé A, Lliberós C, Mencia N, Ciudad CJ, Noé V: **Effect of polypurine reverse hoogsteen hairpins on relevant cancer target genes in different human cell lines.** *Nucleic Acid Ther* 2015, **25**.
- (20) Bener G, Félix AJ, Sánchez de Diego C, Pascual Fabregat I, Ciudad CJ, Noé V: **Silencing of CD47 and SIRP α by Polypurine reverse Hoogsteen hairpins to promote MCF-7 breast cancer cells death by PMA-differentiated THP-1 cells.** *BMC Immunol* 2016, **17**.
- (21) Villalobos X, Rodríguez L, Prévot J, Oleaga C, Ciudad CJ, Noé V: **Stability and immunogenicity properties of the gene-silencing polypurine reverse hoogsteen hairpins.** *Mol Pharm* 2014, **11**.
- (22) Rodríguez L, Villalobos X, Solé A, Lliberós C, Ciudad CJ, Noé V: **Improved design of PPRHs for gene silencing.** *Mol Pharm* 2015, **12**.

7.5. Nanotecnologies

Xavier Fernández

La nanotecnologia abasta un ampli ventall de tècniques i mètodes per a manipular i utilitzar estructures a l'escala nanomètrica. Un nanòmetre és la *milionèsima part d'un mil·límetre* i és l'escala amb la que mesurem la mida de les molècules. Un dels objectius de la nanotecnologia és el desenvolupament de nous materials i elements funcionals mitjançant el control de la seva mida i forma (1). Nanomaterials similars en mida a molècules i sistemes biològics poden tenir més resistència, menys pes, millor control de l'espectre lluminós, una elevada relació superfície/volum i una reactivitat química més gran que els seus equivalents de mida superior (2). La nanotecnologia és una de les àrees de la ciència d'evolució més ràpida, i en la darrera dècada ha fet el salt des d'un camp relativament petit a una revolució científica i industrial d'àmbit global. Com que la funció biològica depèn en gran manera d'elements de dimensions nanomètriques, estris en la nanoescala són prou petits com per a interaccionar-hi directament; això ha dut a la invenció de noves tecnologies biològiques, com ara nanobiosensors de molècula única, diagnosi d'alta resolució, sistemes vectoritzats d'alliberament de fàrmacs, o sondes per a biomatge. Per altra banda, la nanotecnologia també comporta preoccupacions sobre la potencial toxicitat i el possible impacte ambiental dels nous nanomaterials. La nanotoxicologia és una disciplina emergent, i per tant els aspectes dinàmics i la toxicitat *in vivo* de molts nanomaterials encara no són prou ben coneguts (3). Un millor coneixement de les implicacions toxicològiques dels nous nanomaterials és imprescindible degut a les enormes possibilitats d'aplicació de la nanotecnologia en medicina. Les agències reguladores estan treballant en la creació de normatives que han d'assegurar una transferència segura dels nous avenços nanotecnològics del laboratori a la pràctica clínica.

La nanomedicina doncs es pot definir com l'aplicació de la nanotecnologia a la pràctica mèdica, i està definida per la Fundació Europea de la Ciència d'aquesta manera (4): “La nanomedicina empra eines de mida nanomètrica per a la diagnosi, prevenció i tractament de malalties i per a incrementar el coneixement de les seves complexes patofisiologies.

L'objectiu final n'és la millora de la qualitat de vida". Podem distingir tres àrees en aquest camp:

1. Sensors i eines per la diagnosi i la imatge emprades fora del pacient. Per aquestes aplicacions la nanotecnologia s'utilitza per a crear nous aparells per a diagnosi amb una sensibilitat més elevada que els actuals, amb un cost més baix, dimensions més petites o una processivitat més gran.
2. Tecnologies innovadores i nous nanomaterials per a enginyeria de teixits i per a promoure la reparació d'òrgans. Aquestes aplicacions sovint requereixen només manipulacions *ex vivo*, i tenen com a objectiu el desenvolupament de substituts biocompatibles que reparin, mantinguin o millorin la funció dels teixits i òrgans.
3. Sistemes d'alliberament de fàrmacs, l'objectiu dels quals és l'aplicació de la nanotecnologia (sovint en combinació amb la teràpia cel·lular) a la millora dels mètodes per a l'administració de compostos farmacèutics per a obtenir-ne un efecte preventiu o terapèutic millorat.

A curt termini, la nanomedicina aportarà avenços en el descobriment de noves medicines, el seu alliberament eficient i processos analítics i de diagnosi. Hi ha un nombre creixent d'eines per a la imatge i per a l'alliberament de fàrmacs basades en sistemes nanomètrics, mentre que la proliferació de mètodes per a l'anàlisi de molècules individuals i els avenços en la tecnologia de biosensors de base nanotecnològica representen oportunitats immenses per a revolucionar la diagnosi en l'àmbit de l'atenció sanitària. A més llarg termini, els reptes de la nanomedicina són ambiciosos, incloent, a tall d'exemple, biosensors acoblats a sistemes d'alliberament que combinaran la diagnosi *in vivo* amb una teràpia focalitzada (*teranosi*) (5), i tecnologies d'imatge dissenyades amb nanoeines analítiques no invasives que proporcionaran una elevada reproduïbilitat, sensibilitat i fiabilitat en la detecció simultània de varis marcadors biomoleculars per a la seva utilització en el tractament de malalties abans de l'aparició dels seus símptomes.

Finalment, la nanotecnologia està fent una tímida aparició en el camp de la lluita contra les malalties infeccioses en forma de nous estris per a la diagnosi, nanobiosensors i, principalment, estratègies d'alliberament di-

rigit d'agents antimicrobians, encara que de manera imminent s'endevinen aplicacions en nanoimatge i en l'ús de nanopartícules en estratègies de vacunació que millorin la funció del sistema immunitari.

Bibliografia

- (1) Wilson, M.; Kannangara, K.; Smith, G.; Simmons, M.; Raguse, B. *Nanotechnology: Basic Science and Emerging Technologies*; Chapman & Hall, CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2002.
- (2) Vollath, D. *Nanomaterials: An Introduction to Synthesis, Properties and Applications.*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2008.
- (3) Maynard, A. D.; Warheit, D. B.; Philbert, M. A. The new toxicology of sophisticated materials: nanotoxicology and beyond. *Toxicol. Sci.* 2011, **120** (suppl 1), S109-S129.
- (4) European Science Fundation: ESF Forward Look on Nanomedicine 2005 <http://www.nanopharmaceuticals.org/files/nanomedicine.pdf>, Internet Communication 2005.
- (5) Madadi, P.; Enato, E. F.; Walfisch, A. “Actionable theranostics for global maternal health: a focus on HIV and malaria”. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2012**, **12** (8), 831-840.



REIAL ACADÈMIA DE FARMÀCIA DE CATALUNYA
(RAFC)



LAS RECOMENDACIONES DE LA ACADEMIA

Comisión Científica de la RAFC:

- Dra. Montserrat Baiget
- Dra. Núria Casamitjana
- Dr. Julià Garcia Rafanell
- Dr. Santiago Grau
- Dr. Francesc Jané
- Dr. Francisco Javier Luque
- Dr. Jesús Llenas
- Dr. Jaume Piulats
- Dr. Tomàs Pumarola
- Dra. Montserrat Rivero
- Dr. Joan Sabater

Presidente de la Comisión Científica: Dr. Jaume Piulats
Contacto: secretaria@rafc.cat

LAS RECOMENDACIONES DE LA ACADEMIA

LA BIOTECNOLGIA: IMPORTANCIA TERAPÉUTICA Y SOCIO-ECONÓMICA DE LOS MEDICAMENTOS BIOTECNOLÓGICOS

Autores:

- Dr. Jaume Piulats¹
- Dra. Elisabet Rosell²
- Dr. Antoni Iborra³
- Dra. Susana Clemente⁴
- Dr. José Bruno Montoro⁴
- Dra. Elena González⁵
- Dr. David Conde⁵
- Dra. Regina Múzquiz⁶
- Dr. Carlos Lens⁷
- Dr. Santiago Cuéllar⁸
- Dr. Carlos Ciudad⁹
- Dr. Xavier Fernández¹⁰

Coordinador

- Dr. Jaume Piulats

¹ President de la Comissió Científica de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

² Head of Biological Sciences, Reig Jofré. Professor Department of Experimental and Health Sciences. Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida, Universitat Pompeu Fabra.

³ Servei de Cultius Cel·lulars. Producció d'Anticossos i Citometria (SCAC). Universitat Autònoma de Barcelona.

⁴ Servei de Farmàcia. Hospital Universitari Vall d'Hebrón (Barcelona).

⁵ Adjunta. Servei de Farmàcia Hospital del Mar, Barcelona. Professora Associada Mèdica, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona.

⁶ Consultor. Servei de Farmàcia, Hospital del Mar, Barcelona. Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM) Barcelona. Professor Associat Mèdic, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona.

⁷ Directora General de BioSim, Asociación Española de Biosimilares.

⁸ Consultor. Académico Correspondiente de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

⁹ Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Académico Correspondiente de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya.

¹⁰ Departament de Bioquímica i Fisiologia. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona.

¹¹ Nanomalaria Group, Institut for Bioengineering of Catalonia (IBEC). The Barcelona Institut of Science and Technology, Barcelona.

Barcelona Institut for Gobral Health (IS Global, Hospital Clínic- Universitat de Barcelona).

Índice

Conclusiones y Recomendaciones.....	147
1. Introducción a la Biotecnología Farmacéutica.	
Antecedentes históricos	
Jaume Piulats	155
2. Obtención de fármacos biotecnológicos	
2.1. Proteínas Recombinantes. Elisabet Rosell	163
2.2. Anticuerpos Monoclonales. Antoni Iborra	171
3. Aplicaciones Terapéuticas. Medicamentos biotecnológicos	
Susana Clemente y J. Bruno Montoro.....	179
4. Efectos adversos. Fármacovigilancia	
Elena González y David Conde.....	193
5. Medicamentos Biosimilares	
Regina Múzquiz	213
6. El desarrollo de los medicamentos biosimilares en España	
Carlos Lens	227
7. Futuro de la Biotecnología	
7.1. Proteínas Recombinantes de interés farmacológico	
Santiago Cuéllar	241
7.2. Anticuerpos Monoclonales	
Antoni Iborra	249
7.3. Perspectivas de la Inmunoterapia del cáncer	
Santiago Cuéllar	255
7.4. Aplicaciones biomédicas de los oligonucleótidos	
Carlos Ciudad.....	263
7.5. Nanotecnologías	
Xavier Fernández	271

LA BIOTECNOLGIA: IMPORTANCIA TERAPÉUTICA Y SOCIO-ECONÓMICA DE LOS MEDICAMENTOS BIOTECNOLÓGICOS

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los autores de este estudio creemos que antes de recomendar o sugerir puntos concretos de actuación, tendríamos que hacer unas consideraciones previas, que a título de Conclusiones, resumiesen la situación de los agentes biotecnológicos, en el terreno sanitario, a la luz de los capítulos que contiene esta monografía:

Conclusiones

1. En el aspecto tecnológico, el desarrollo de la biotecnología es una historia de éxito. La técnica del ADN-recombinante y la metodología para la obtención de anticuerpos monoclonales murinos fueron el punto de partida de una veloz carrera orientada a la mejora de los agentes obtenidos. Hoy contamos ya con unos 200 fármacos biotecnológicos aprobados por las autoridades sanitarias. Un salto cualitativo fue el poder disponer, a partir de 1991, de anticuerpos monoclonales humanos. Casualmente, al escribir estas líneas recibimos con satisfacción la noticia de la concesión del Premio Nobel de Química 2018 al Dr. Gregory Winter, quien puso a punto la tecnología para la obtención de los anticuerpos monoclonales humanos, que por su baja o nula inmunogenicidad tuvieron un enorme impacto terapéutico.
2. Los medicamentos de tipo biotecnológico aprobados hasta el día de hoy presentan aplicaciones terapéuticas en áreas tan diversas como:
 - Terapia antineoplásica.
 - Enfermedades inflamatorias inmunomediadas (artritis reumatoide, psoriasis, Crohn, etc...)
 - Terapia de enfermedades lisosomales.
 - Terapia de enfermedades minoritarias o raras.
 - Terapia en trasplante
 - Terapia en asma.
 - Terapia de enfermedades infecciosas.
 - Terapia cardiovascular.
 - Terapia con anticoagulantes.
 - Terapia de la degeneración macular.
 - Terapia de la osteoporosis.
 - Terapia de la esclerosis múltiple.
 - Terapia de la hemofilia.

El desarrollo de la biotecnología ha permitido identificar dianas terapéuticas y con ello diseñar fármacos altamente específicos, es decir el inicio de la terapia de precisión.

3. El progreso tecnológico citado en el punto anterior dio lugar a una explosión en la creación de nuevas empresas orientadas a la investigación y desarrollo de nuevas dianas y agentes biotecnológicos. Fruto de este movimiento industrial la biotecnología en el área biosanitaria ha supuesto un impacto económico muy significativo, especialmente en los Estados Unidos y Europa. Los medicamentos biológicos representaron, en 2017, un 20% del total del mercado farmacéutico y para el 2020 este porcentaje puede elevarse a un 30% del mercado farmacéutico de prescripción. De los diez medicamentos que reportaron mayores ventas seis ya eran productos biotecnológicos.
4. El principal problema de la terapia con medicamentos biotecnológicos es su elevado coste: 10.000-100.000 \$/año. En la actualidad, la principal herramienta para lograr un control sobre el gasto en el presupuesto del Sistema Nacional de Salud es la potenciación de los agentes biosimilares. Estos generarán un ahorro para el sistema de salud español de 1.500 mill. € de aquí a 2020.

Los medicamentos biosimilares, con las mismas garantías de calidad, seguridad y eficacia, que el producto original, generan competencia y por tanto disminuyen los costes de los tratamientos biológicos. Esto redundará en una mayor eficiencia terapéutica y, en consecuencia, contribuye a la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud. Con los biosimilares se espera una reducción de precios del orden de 20-30%.

Al analizar factores económicos de una determinada terapia deberíamos tener en cuenta que los fármacos biotecnológicos pueden inducir una reducción significativa del tiempo de hospitalización y del período de tratamiento, elementos que pueden repercutir en la reducción de costes.

Actualmente la Comunidad Europea ha aprobado 43 fármacos biosimilares correspondientes a 15 principios activos. La penetración de los biosimilares en el mercado español es del 14% del consumo de medicamentos biológicos en unidades. La entrada en el mercado es-

pañol de los biosimilares se está produciendo de forma escalonada pero progresiva sin que el regulador haya introducido modificaciones de calado en el marco normativo.

Las fuerzas del mercado actúan sobre el precio de los medicamentos biosimilares con mayor intensidad que sobre los medicamentos genéricos. Este proceso, deseable desde la perspectiva del SNS, tiene efecto desincentivador sobre el desarrollo de nuevos biosimilares.

La normativa sobre intercambiabilidad juega un papel clave en las decisiones de prescripción y es probable que se requiera adaptar el marco normativo a la nueva situación, especialmente en los anticuerpos monoclonales.

5. Las posibilidades de crecimiento en el área biomédica de la biotecnología son enormes como refleja el amplio capítulo 7, que resume las posibilidades de las proteínas recombinantes, de los anticuerpos monoclonales, de la inmunoterapia del cáncer, el desarrollo en la utilización de los oligonucleótidos terapéuticos, que se ha visto incrementada con la reciente aprobación del primer siRNA- Patisiran- para uso humano, concretamente para el tratamiento de la amiloidosis transtiretina hereditaria, y de las nanotecnologías.

Estas conclusiones sugieren que la Biotecnología será en los próximos años un área de excepcional crecimiento tanto desde el punto de vista científico y terapéutico como en el económico y consecuentemente nos permiten añadir las siguientes recomendaciones.

RECOMENDACIONES

1. Creemos que el potencial de la Biotecnología en el espacio biosanitario, aconseja un posicionamiento político que conduzca a un continuado apoyo gubernamental a favor del crecimiento de los procesos I+D+i (Investigación, Desarrollo, innovación) y de desarrollo industrial. Para ello, en el área geográfica que nos es propia, Catalunya, nuestra Academia desea recomendar un Plan de Acción basado en la especialización, en la inversión mixta público-privada y en la magnífica red, ya existente en Catalunya, de centros de investigación y Parques Científicos de primera calidad, incluyendo el soporte a la investigación básica realizada en las Universidades.
2. Estimular la interacción entre los grupos de investigación básicos y los equipos de investigación de la industria farmacéutica, creando espacios de encuentro, en los que se catalicen colaboraciones, en las que surjan sinergias que induzcan el avance en el descubrimiento de nuevos fármacos.
3. Potenciar los estudios orientados a mejorar los procesos de producción de proteínas recombinantes y anticuerpos monoclonales. Especialmente importante sería el establecimiento de la estandarización de los procesos y el escalado industrial.
4. Los agentes biotecnológicos pueden presentar efectos adversos por ello es recomendable, recordar y estudiar la Guía de Buenas Prácticas de Fármacovigilancia publicada en 2016 (específica para fármacos biotecnológicos) por la Agencia Europea del Medicamento (EMA). Igualmente es importante potenciar los Planes de Gestión de Riesgos y mejorar la trazabilidad del producto.
5. Potenciar el desarrollo de nuevos biosimilares y aumentar la información clínica sobre su uso terapéutico a los profesionales de la salud y público en general.

6. Mejorar la accesibilidad de los medicamentos biológicos para los pacientes ambulatorios, promoviendo la autorización por la AEMPS (Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios) de la dispensación en las farmacias comunitarias, con todos los controles administrativos que se estimen pertinentes, para aquellos medicamentos biológicos formulados para su auto-administración por el paciente, que no requieran ningún tipo de monitorización clínica durante su administración. Podría aprovecharse esto, además, para recopilar una información muy relevante de seguridad y adherencia terapéutica, que debería ser reportada a las autoridades sanitarias (Consejería de Sanidad de la Comunidad Autónoma y AEMPS).
7. En las decisiones de los reguladores y adquirientes o prescriptores de medicamentos debe tenerse en cuenta la localización de las producciones de medicamentos biotecnológicos – biosimilares o de referencia - , así como la titularidad de dichas instalaciones. La I+D+i de medicamentos biotecnológicos es costosa y las decisiones de inversión en activos fijos y contratación de personal revisten carácter estratégico y, por ello, la asignación de recursos vía mercado no debe soslayar aspectos tan relevantes y que tienen tanto impacto en el desarrollo socioeconómico.

MONOGRAFIAS

1. INTRODUCCIÓN A LA BIOTECNOLOGÍA FARMACÉUTICA. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Jaume Piulats

En primer lugar es necesario definir que entendemos por Biotecnología Farmacéutica. En el trabajo publicado, el 2008, por H. Kreuzer y A. Masey, “Molecular Biology and Biotechnology” (1) definen el término “biotecnología” como: ”Utilización de organismos vivos o moléculas biológicas para solucionar problemas o fabricar productos útiles”. En nuestro ámbito de actuación, la farmacia, esta definición se refiere únicamente a la biotecnología aplicada al campo de la salud, es decir, en la investigación biomédica, en el diagnóstico de laboratorio, y en la terapia. Consecuentemente, la palabra biofármaco, que fue acuñada en 1980, se refiere a aquellos agentes terapéuticos obtenidos mediante métodos biotecnológicos. En el trabajo que hoy abordamos desde la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, nos centraremos únicamente en el uso terapéutico de los agentes biotecnológicos, tanto en los aspectos científicos como en los problemas socio-económicos, que puedan generar por su elevado costo. Esta área de estudio es la que entendemos como Biotecnología Farmacéutica. Deseamos analizar el papel actual de la biotecnología en la terapia y profundizar en los aspectos económicos y sociales a los que se enfrentan los sistema de salud pública para lograr que los avances en este campo puedan llegar a toda la población.

A fines del siglo XVIII se produjeron dos avances muy importantes para el desarrollo científico y médico. Nos referimos a la publicación del “*Traité élémentaire de chimie*” por Antoine Levoisier (1789) y la utilización, por Edward Jenner (1796), por primera vez en una persona, de la vacuna de la viruela. El rigor y meticulosidad del trabajo experimental del químico francés, Levoisier, consiguieron iluminar una nueva concepción de las propiedades de la materia y constituyeron la base de la química moderna. Por su parte, Jenner logró establecer la vacunación como un método eficaz de medicina preventiva y que en algunos casos permitiría erradicar la enfermedad.

A lo largo del siglo XIX la química de síntesis fue progresando paulatinamente y a mediados de siglo recibe un empuje espectacular gracias al trabajo de William Henry Perkin, estudiante del Royal College of Chemistry de Londres, que trabajando en un método de síntesis de la quinina, producto natural utilizado como antipirético en pacientes de malaria, fracasó en su intento, pero su trabajo (1856) condujo a la síntesis de la anilina, como primer colorante sintético. El éxito económico e industrial en la producción de anilinas indujo el crecimiento de laboratorios europeos dedicados a la síntesis de nuevos colorantes y productos farmacéuticos. Nacía la industria químico-farmacéutica europea, así a finales del siglo XIX, en 1895, tuvo lugar la síntesis y comercialización del Acido Acetilsalicílico como Aspirina®. Este éxito farmacéutico parecía abrir la puerta a un nuevo siglo, el XX, en el que la historia de la farmacia conocería una época excepcional. En las primeras décadas de aquel neonato siglo XX se inició el desarrollo de las grandes industrias químico-farmacéuticas centroeuropeas. El desarrollo de la química de colorantes, como por ejemplo, el prontosil rubrum, proporcionó, en 1930, una nueva familia de agentes terapéuticos: las sulfamidas. En la década de los cuarenta, con una Europa inmersa en la locura bélica, se descubrió la penicilina, y con ella se inició una de las etapas más fructíferas con el desarrollo de la antibioterapia.

Recordamos estos antecedentes históricos para reforzar la idea que la química de síntesis orgánica, en el diseño de nuevos fármacos, reinó desde finales del siglo XIX y todo el siglo XX, con unos resultados espectaculares pues ha ofrecido fármacos que han mejorado y prolongado la vida media de la población.

En el período que va de 1969 a 1975 la investigación científica aportó tres descubrimientos singulares, que llevaron al nacimiento de la biotecnología y a su utilización médico-farmacéutica. Nos referimos a: ¹⁾ el descubrimiento de las citocinas, ²⁾ el descubrimiento de los enzimas de restricción y ³⁾ la obtención de anticuerpos monoclonales. En 1969, D.C. Dumonde y colaboradores publicaron en la revista Nature un interesante trabajo titulado: “*Lymphokines: non-antibody mediators of cellular immunity*” (2), estudio pionero que permitió definir la existencia de mediadores químicos que permitían la intercomunicación entre los componentes celulares del sistema inmunitario. Inicialmente, se pensaba que estos mediadores se producían exclusivamente en los linfocitos, por ello

se denominaron linfocinas, pero posteriormente se comprobó que otros tipos celulares pueden producir mediadores y consecuentemente hoy los conocemos como citocinas. El segundo gran descubrimiento, citado anteriormente, se refiere a los enzimas de restricción. En 1970 se aislaron unas nucleasas que, a diferencia de las ya conocidas, no cortaban el ADN al azar, sino que lo hacían de forma específica en secuencias determinadas, eran las llamadas endonucleasas de restricción, o simplemente “enzimas de restricción”. Su función biológica era discriminar un ADN extraño respecto al ADN propio. Así, el ADN extraño podía ser cortado y, finalmente, degradado por la célula. La acción selectiva de los enzimas de restricción es la base para su aplicación en la tecnología del ADN-recombinante. Su especificidad permite aislar el gen codificador de una proteína y su posterior implantación en un vector (por ejemplo, un plásmido bacteriano), el cual, al ser transfectedo en una bacteria o célula de mamífero, permitirá que aquel mensaje genético sea leído y se genere la proteína codificada por aquel gen. Este es el fundamento de la técnica del ADN-recombinante, un método eficiente que permite la obtención de proteínas humanas para su uso terapéutico (3).

Cronológicamente, el último descubrimiento al que hacíamos referencia es la obtención de anticuerpos monoclonales. En 1975, se publicó en Nature, un artículo fundamental en el nacimiento de la biotecnología farmacéutica. El artículo, titulado : “*Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity*” (4), lo firmaban C. Milstein y G. Köhler, director del Departamento de Inmunología de la Universidad de Cambridge (UK) y un joven suizo visitante posdoctoral del departamento inglés, respectivamente. El objetivo de su trabajo era obtener un anticuerpo monoespecífico, monoclonal, frente a una proteína diana. Milstein y Köhler fusionaron linfocitos B, procedentes del bazo de ratones inmunizados con la proteína de interés y una célula de mieloma, es decir, una célula neoplásica de la misma estirpe que los linfocitos B. La fusión daba lugar a una nueva célula que se denominó “hibridoma” y que recogía las dos propiedades más importantes de las células parentales: la producción del anticuerpo por parte de las células B y la inmortalidad en cultivo que ofrecía la célula de mieloma. La fusión celular se realizó, en el trabajo original, con la ayuda de un virus, pero posteriormente se pudo comprobar que el polietilenglicol (PEG) lograba una buena eficiencia en el proceso de fusión celular, generalizándose su uso. El clonaje final del hibridoma es la última etapa de una técnica

que permite conservar, bajo congelación, una nueva entidad celular, el hibridoma, capaz de producir el anticuerpo deseado.

El trabajo de Milstein y Köhler dió alas al nacimiento de una nueva industria farmacéutica: las empresas biotecnológicas, que a partir de la década de los ochenta inician su recorrido en los Estados Unidos. En 1984, Milstein y Köhler recibieron el premio Nobel de Medicina.

En el campo del diagnóstico, la utilización de los monoclonales como herramientas se extendió con rapidez. Sin embargo, su utilización terapéutica presentaba aún problemas que limitaban su desarrollo. El principal problema era su inmunogenicidad pues la técnica descrita anteriormente partía de la inmunización de ratones y, consecuentemente, la proteína final del proceso, el anticuerpo monoclonal, era una proteína murina. Por ello, el sistema inmunitario de un paciente tratado con un monoclonal de origen murino veía a aquella proteína como algo extraño y reaccionaba produciendo, a su vez, anticuerpos que bloqueaban el anticuerpo terapéutico. En otras palabras, el paciente reaccionaba negativamente a la terapia biológica utilizando sus propios sistemas de defensa. Se acuñó el término HAMA para los anticuerpos humanos dirigidos contra la proteína murina (HAMA: Human Anti-Mouse Antibodies). Esta situación generó, en 1985 y 1986, varios proyectos orientados a la obtención de anticuerpos monoclonales humanos. En 1991, G. Winter, de la Universidad de Cambridge, publicó dos elegantes artículos (5,6) en los que describía el método de “humanización” de los anticuerpos murinos mediante la utilización de la entonces emergente biología molecular. Inicialmente, se construyeron los anticuerpos monoclonales quiméricos en los que se conservaba la proteína murina en las zonas de reconocimiento del anticuerpo, a continuación los “humanizados” (“reshaped antibodies”) solo conservaban de la proteína murina original los tres segmentos hipervariables CDRs (o Complementary Determining Regions), finalmente se obtuvieron anticuerpos monoclonales totalmente humanos mediante técnicas como la generación de cepas de ratones transgénicos para los loci de las inmunoglobulinas humanas o bien mediante la tecnología de bibliotecas de fragmentos de anticuerpos presentados en proteínas de la superficie de fagos filamentosos.

En resumen, los tres descubrimientos que hemos comentado permitieron la obtención de citocinas, proteínas y anticuerpos monoclonales de interés terapéutico.

En la década de los setenta, una de las citocinas que atrajo la atención del mundo científico fue el interferón leucocitario por su potencial actividad antiviral y antineoplásica. Su obtención se realizaba a partir de la activación viral del llamado “buffy-coat” de una donación de sangre, es decir, del sedimento celular resultante de separar el plasma. Uno de los laboratorios que optimizó el método de obtención fue el Dr. K. Cantell en las instalaciones de la Cruz Roja en Helsinki (Finlandia). Lamentablemente, este método de obtención tuvo que ser abandonado cuando, en 1981, apareció una nueva enfermedad, posteriormente conocida como sida. Los primeros afectados por la enfermedad en Europa habían recibido transfusiones de plasma procedente de Estados Unidos y debido al desconocimiento que había entonces sobre el agente causal de la enfermedad, se prohibió el uso terapéutico de los derivados sanguíneos. Afortunadamente, la nueva tecnología del ADN-recombinante permitió clonar el gen del interferón y obtener la proteína sustituyendo así el método de Cantell (7).

En la etapa inicial del desarrollo biotecnológico la producción de insulina humana recombinante representa otro hito fundamental en la producción de proteínas endógenas de interés terapéutico. La insulina humana fue, en 1982, el primer medicamento biotecnológico (8).

Los anticuerpos monoclonales fueron aprobados como fármacos unos años más tarde, así, en 1986 se aprobó el Muromonab (Orthoclone OKT3®), un anti-CD3 indicado en el tratamiento del rechazo agudo en trasplantes; en el período de 1997 - 1998 asistimos a la aprobación del Rituximab (Rituxan®), que reconoce la molécula CD20 de los linfocitos B y demostró su eficacia terapéutica en el tratamiento del linfoma no Hodgkin y el Trastuzumab (Herceptin®), anticuerpo anti-HER2, indicado en la terapia del cáncer de mama metastásico o el Infliximab (Remicade®), anticuerpo anti-TNF para el tratamiento de la artritis reumatoide.

Con la entrada del siglo XXI se incrementó de forma significativa la obtención de anticuerpos terapéuticos, paralelamente al desarrollo de las tecnologías para obtener formas humanizadas del anticuerpo, hasta que se logró el monoclonal totalmente humano, el primero en aprobarse, en el 2006, fue el Panitumumab (Vectilix®), un anti-EGFR indicado en cáncer colorectal.

La llegada de los fármacos biotecnológicos coincidió con una cierta crisis en la obtención de productos de síntesis novedosos, parecía que la química de síntesis hubiera llegado a una cierta saturación de sus recursos. En 2010, un 20% de los NMEs (New Molecular Entity) introducidos en el mercado farmacéutico habían sido obtenidos mediante métodos biotecnológicos ya en el 2006 se comercializaban más de 200 medicamento biotecnológicos en todo el mundo, con unas ventas estimadas de 55 mil millones de dólares (9).

En los últimos años, el papel terapéutico de los fármacos biotecnológicos ha tenido un crecimiento espectacular, el año 2012 las ventas de productos biotecnológicos alcanzó, en el conjunto mundial, a 163\$B, que representa un 19% de las ventas en productos de prescripción. De 119 productos considerados como “*blockbusters*” (es decir con ventas superiores a 1\$B/año) 47 (39%) fueron biotecnológicos. Frente a este potencial económico el principal problema de estos biofármacos es el elevado costo de las terapias innovadoras que pueden oscilar entre 10000 y 100000 \$/paciente/año. Naturalmente, estos elevados costos dificultan su integración en los sistemas de salud pública (10).

Los fármacos de síntesis química encontraron, hace ya unos años, con la aparición de los genéricos una vía de contención del gasto. Posteriormente, la posibilidad de comercializar los llamados “biosimilares”, al finalizar el período de patente del medicamento biotecnológico original, ha abierto la vía para intentar resolver o limitar el problema de cómo hacer llegar este tipo de fármacos a toda la población. En cualquier caso tenemos que tener en cuenta que el desarrollo de un genérico requiere un proceso de 2-3 años y una inversión de 1-3 mill. €, mientras que un biosimilar necesita unos 100-300 mill.€ y 5-8 años de desarrollo. Algunos países han introducido los biosimilares de forma decidida, pero en otros, como es el caso de España, parece existir cierta reticencia por parte de los profesionales sanitarios. En este trabajo deseamos analizar la situación actual de este tema a fin de hacer propuestas útiles que nos ayuden en el uso correcto de los agentes biotecnológicos (11).

Para finalizar esta Introducción podríamos resumir nuestro objetivo global con estas palabras: El estudio tiene por finalidad estudiar el papel terapéutico de los fármacos biotecnológicos en nuestro país, analizando tanto la situación actual como las posibilidades de desarrollo de los

próximos años. El elevado costo de este tipo de tratamientos pueden dificultar su introducción en el sistema de salud pública, por ello creemos necesario abordar también los factores socio-económicos del problema para tratar de aportar propuestas en los terrenos científico, tecnológico y administrativo, que favorezcan el desarrollo de la biotecnología farmacéutica y que sus beneficios sanitarios puedan alcanzar a todos los pacientes que lo requieran.

Bibliografía

- (1) Kreuzer H., Massey A. 2008. *Molecular Biology and Biotechnology. A guide for teachers.* ASM Press, Washington DC.
- (2) Dumonde D.C., Wolstencroft R.A., Panayi G.S., Matthew M., Morley J., Howson W.T. 1969. “Lymphokines: Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation”. *Nature Lond.* 224,38.
- (3) Primrose S.B., Twyman R. M., Old R.W. 2001. *Principles og gene manipulation.* 6a edició. Regne Unit: Blackwell Science.
- (4) Köhler G., Milstein C. 1975. “Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity”. *Nature* 256 (5517), 495-497.
- (5) Winter G., Milstein C. 1991. “Man-made antibodies”. *Nature* 349,293-299.
- (6) Marks J.D., Hoogenboom H.R., Bonnert T., Mc Cafferty J., Griffiths A.D., Winter G. 1991. “By-passing immunization human antibodies from V-gene libraries displayed on phage”. *J.Mol.Biol.* 222: 581-597.
- (7) Cantell K. 1986. “Clinical performance of natural human leukocyte interferon”. *Immunobiology* 172: 231-242.
- (8) Cuéllar S. 2009. “Citocinas y proteinas de interés terapéutico”. *Biotecnología y Biofármacos.* Consejo General de Colegios Farmacéuticos, pp. 173-209.

- (9) Scheinerd K. C., Kalinke U. 2008. “Toward Biosimilar Monoclonal Antibodies”. *Nature Biotechnology*, vol. 26, n. 9.
- (10) Saucedo J. L., Clemente S., Mendarte L., Montoro J. B. 2008. “Eficiencia de los fármacos de origen biotecnológico en el marco terapéutico actual, según los estudios farmacoeconómicos disponibles”. *Pharmacoeconomics. Spanish Research Articles* 5: 119-133.
- (11) *Libro Blanco de los medicamentos Biosimilares en España: Innovación y Sostenibilidad*. 2017. Fundación Gaspar Casal.

2. OBTENCIÓN DE FÁRMACOS BIOTECNOLÓGICOS

2.1. Proteínas recombinantes

Elisabet Rosell i Vives

La biotecnología, entendida actualmente, tiene el inicio con el desarrollo de la tecnología del DNA recombinante. Esta tecnología permite producir proteínas recombinantes en bacterias y células eucariotas. El proceso resumido, se trata de aislar el gen de interés que codifica para la proteína deseada, insertar este material genético en un vector apropiado, introducir este vector en una célula huésped creando un organismo genéticamente modificado. Esta célula deberá ser capaz de expresar la proteína recombinante, que finalmente será purificada. Las células, ya sean procariotas o eucariotas, actúan como pequeñas factorías de biofármacos.

DNA recombinante

El proceso de producción de una proteína recombinante se inicia con la obtención de un vector capaz de introducir el DNA que queremos expresar en la célula huésped. Esta tecnología se inició con el descubrimiento de las enzimas de restricción y de la existencia de unos fragmentos de DNA circulares extracromosómicos presentes en las bacterias, los llamados plásmidos. Las bacterias, en especial la *Escherichia Coli* (*E coli*) fueron las primeras células donde se obtuvieron las primeras proteínas recombinantes. La primera proteína recombinante que se expresó en *E coli* fue la insulina humana (Johnson, 1983). La producción biotecnológica de la insulina recombinante permitió tratar a millones de diabéticos que hasta el momento solo algunos tenían acceso a ser tratados con insulina purificada a partir de páncreas de cerdo.

Más tarde en 1984 se descubrió la tecnología de la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permitió la amplificación de una región concreta de DNA (Rabinow, 1996). La PCR usa una polimerasa ter-

moresistente y diseñando unos cebadores que nos delimiten la región de DNA que queremos amplificar, podemos obtener millones de copias de la secuencia comprendida entre los dos cebadores. El diseño de los cebadores permite introducir unas secuencias más allá de las homólogas con la secuencia que queremos amplificar, donde podemos introducir por ejemplo una diana de restricción que nos permita el clonaje en un determinado vector. Esto permite poder clonar cualquier gen de interés conociendo su secuencia y teniendo un tejido o célula que lo exprese para poder utilizar el RNA, pasado a cDNA, como DNA molde a partir del cual se realizan las copias.

Hoy en día la síntesis de DNA ha mejorado y se puede conseguir a unos precios asequibles, por lo que el material a clonar puede diseñarse y obtenerse por síntesis de las dos cadenas de DNA que conformaran la información para poder sintetizar una determinada proteína (Tian J, 2009).

Vectores

Llamamos vectores en biología molecular a una vehículo que nos permite introducir un gen dentro de una célula. El diseño de los vectores dependerán de si finalmente se va a utilizar un sistema de expresión en procariotas o eucariotas. Para las bacterias, se usan vectores que provienen de los propios plásmidos de las bacterias. Estos plásmidos son transmitidos durante el proceso de división celular. Así una vez obtenida la bacteria recombinante, el material introducido quedará incorporado a las células derivadas del clon recombinante (Gerhard Hannig, 1998).

En las células eucariotas si se usan vectores tipo plásmido, solo se obtiene una expresión transiente de la proteína recombinante. Para conseguir una línea celular estable que exprese la proteína recombinante, la información genética de la proteína debe quedar integrada en el genoma de la célula huésped. Para ello muy a menudo se usan virus para asegurar que el DNA recombinante entra en la célula y se integra en el DNA (Khan, 2013).

Los vectores, además de tener insertado el gen de interés a expresar, contienen un marcador que nos permite identificar aquellas células huésped que han incorporado el vector y que por tanto son capaces de expresar la proteína recombinante.

Células huésped

La elección del sistema de expresión a utilizar dependerá del tipo de proteína que se tenga que expresar. Siempre se irá al sistema de expresión más eficaz y de mayor rendimiento. Los sistemas de expresión comúnmente utilizados para la expresión de proteínas recombinantes son:

- Procariotas:
 - *E. coli*
- Eucariotas
 - Células no humanas: *CHO* (derivadas de ovario de hámster)
 - Células murinas: *NSO murine mieloma*
 - Células humanas: *PERc6* (derivadas de retina)

Otros sistemas de expresión menos usados y que tienen algunas restricciones a nivel regulatorio son: las levaduras (en especial *Saccharomyces*) o baculovirus. Todavía están poco regulados y aceptados otros sistemas de expresión para proteínas terapéuticas como podrían ser las plantas o animales transgénicos, las larvas de insecto (Amitha Reena Gomes, 2016)

Las proteínas sencillas de peso molecular por debajo de los 50kDa y que no necesiten estar glicosiladas para su función biológica, pueden expresarse en *E. coli*. La insulina es un buen ejemplo de proteína expresada en una *E. coli* recombinante.

Las proteínas más complejas formadas por varias cadenas, que tienen más de tres puentes disulfuro entre sus cisteínas, de peso molecular por encima de 50 kDa y que necesitan glicosilación, deberán ser expresadas en sistemas más complejos, como son las células eucariotas. Los anticuerpos terapéuticos son un buen ejemplo.

Producción de proteínas terapéuticas. Creación de los bancos celulares

Una vez se ha establecido la proteína terapéutica a producir, el primer paso es la selección del vector y el sistema de expresión. El DNA codi-

ficiente para la proteína de interés lo podemos obtener mediante amplificación por PCR a partir de células o tejido que sabemos que expresa esta proteína. Como se ha comentado antes, también se puede obtener la secuencia de DNA de interés por síntesis. Es importante en este punto optimizar los codones para el sistema de expresión que finalmente va a utilizarse. La elección del vector y su optimización para conseguir unos niveles de expresión lo más altos posibles, es un trabajo que realizado al principio va a ahorrarnos problemas posteriores de falta de rentabilidad del sistema. En algunas ocasiones la proteína terapéutica va acompañada de una secuencia extra de unos pocos aminoácidos para facilitar la detección, así como su purificación posterior. Una de las colas más utilizadas es la de seis histidinas.

Una vez construido el vector, éste debe introducirse en la célula huésped quien finalmente producirá la proteína de interés. La selección de los clones productores es un proceso muy fácil si se utilizan bacterias como sistema de expresión. En el caso de células de mamífero el proceso de selección y clonaje celular puede suponer varios meses de trabajo. En este caso, no todas las células recombinantes tendrán el mismo nivel de expresión de la proteína foránea, por lo que es muy importante seleccionar los clones más productores.

Durante el desarrollo, a parte de la optimización del vector, debe también optimizarse el sistema de expresión (Sanjeev K.Gupta, 2016). Deberemos también saber como y donde se expresa nuestra proteína y esbozar los pasos que serán necesarios para purificarla. Si el sistema de expresión es *E coli*, a menudo la bacteria empaqueta las proteínas foráneas formando lo que conocemos como cuerpos de inclusión. En estos cuerpos, la proteína normalmente se encuentra desnaturalizada, con lo que será necesario un proceso de solubilización y replegamiento para llegar a tener la proteína biológicamente activa. En este momento deberá definirse también la calidad que va a requerir el producto, así como todos los controles que usaremos durante el proceso y desarrollar los métodos analíticos para su caracterización.

A partir del momento en que tenemos una línea productora estable optimizada, se debe hacer el primer banco celular. Éste constituirá el Research Cell Bank (RCB) y a partir de aquí se deben construir los bancos celulares posteriores. La primera expansión de las células productoras

la dedicaremos al *Master Cell Bank* (MCB). Este banco máster debe ser exhaustivamente caracterizado.

A partir del MCB se establece el banco de trabajo o *Working Cell Bank* (WCB). Los dos bancos celulares, MCB y WCB, van a ser las factorías de las proteínas terapéuticas y deben ser creados bajo la normativa de calidad de las buenas prácticas de producción (GMP, *Good Manufacturing Practice*).

Manufactura y control de las proteínas recombinantes

Las producciones se realizarán siempre a partir del WCB. En un primer periodo puede realizarse una producción no GMP mientras se establece el escalado y los métodos analíticos que cumplan los criterios de las guías (ICH Q6B). El proceso de descongelación de la alícuota del banco celular, hasta la obtención del producto crudo que contiene la proteína (puede ser un sobrenadante o un sedimento celular) nos referiremos a proceso UP. La purificación de la proteína recombinante a partir del crudo, se designa proceso DOWN. La purificación de lo que constituirá la proteína terapéutica y la separación de la mayoría de contaminantes usados en el proceso de producción, debe quedar perfectamente definido y caracterizado. Los antibióticos usados en la selección, detergentes usados en la solubilización, resinas usadas en la purificación, restos víricos que pueden estar presentes en los vectores, el DNA o proteínas derivadas de la célula huésped y un listado importante de impurezas deben ser cuantificados y delimitados.

La producción de la proteína recombinante, proceso UP, puede llegar a usar biorreactores de grandes volúmenes, miles de litros. Actualmente los recipientes donde se produce la proteína son de un solo uso para poder facilitar la limpieza del material de producción en producción y evitarse contaminaciones.

Para el proceso Down, donde se deberá purificar la proteína y liberarla de los contaminantes, se usarán distintas fases cromatográficas, normalmente tres, hasta tener un fármaco que cumpla con los criterios de calidad establecidos durante el desarrollo del proceso.

Regulación

El proceso de producción de un biofármaco es tan complejo que cada lote de producción debe ser exhaustivamente controlado y deberá cumplir los criterios de aceptación establecidos para cada uno de los parámetros analíticos. Muchas veces escucharemos que “el proceso es el producto”. Así se define en la directiva de la Comisión Europea 2003/63/EC.

En este punto del desarrollo se estudia la estabilidad del producto y se empieza la formulación del fármaco en su forma final. La estabilidad de la forma farmacéutica final y los parámetros de calidad, deben definirse en este punto. Los estudios de estabilidad deben seguir las normativas 3AB5A, CMPM/ICH/138/95 ICH Topic 5QC (EMA, regulatory, 2018) (EMA, ICH, 2018).

Una vez establecida la forma farmacéutica final y la manufactura del producto, establecidos los parámetros de calidad y demostrada una mínima estabilidad, con toda esta información puede redactarse el dossier, Investigational Medicinal Product Dossier (IMPD), para poder solicitar los estudios clínicos.

Para la entrada en los estudios clínicos debe realizarse la producción bajo la norma de calidad GMP. Así mismo deben cumplirse los requisitos regulatorios para la proteína (EMA, drug substance, 2018) y para el producto final (EMA drug product, 2018).

Producción de Anticuerpos monoclonales

Los anticuerpos monoclonales representan un importante porcentaje de las nuevas proteínas terapéuticas. Si el anticuerpo se ha obtenido a partir de la tecnología clásica de hibridomas, el anticuerpo murino puede obtenerse directamente a partir del cultivo del hibridoma,. Aunque todavía está en el mercado el anticuerpo OKT3 (Hogquist, 2016), comercializado en 1985, usado para el rechazo agudo, la mayor parte de los anticuerpos terapéuticos que salen actualmente en el mercado, tienden a ser anticuerpos modificados químéricos o incluso humanos obtenidos a partir de la tecnología del phage display. En este caso, las regiones variables de los anticuerpos serán clonados en vectores apropiados para

la producción del isotipo requerido. Los anticuerpos modificados serán expresados finalmente en células de mamífero, siendo las más utilizadas las ya citadas CHO.

Reducción de costes

La producción de proteínas recombinantes es un proceso complejo y caro. La cantidad de proteína que es capaz de expresar nuestro sistema de expresión, la factoría celular seleccionada, será clave para que el proceso sea viable. El escalado industrial cada vez más tiende a usar contenedores de un solo uso, que aunque son caros, optimizan el proceso de limpieza y preparación de la zona de producción. Las células eucariotas modificadas para la producción de proteínas, han sido optimizadas para poder alcanzar una densidad de cultivo mayor, con lo que con un mismo volumen podemos tener más células y consecuentemente más proteína fabricada.

En un futuro, cuando se demuestre la viabilidad y quede regulado, los sistemas transgénicos serán una fuente de proteína a un coste mucho menor, que el actual cultivo celular y uso de biorreactores.

Bibliografía

- Amitha Reena Gomes, S. M. (2016). “An Overview of Heterologous Expression Host Systems for the Production of Recombinant Proteins”. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 346-356.
- EMA drug product. (2018). Recollit de <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines/biologicals/biologicals-finished-product>.
- EMA, drug substance. (2018). *Biologics: active substance*. Reco
llit de <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines/biologicals/biologicals-active-substance>.

- EMA, ICH. (2018). Recollit de http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/Training/ASEAN_Q5C_workshop_May_2011/SESSION_Ia_ICH_Q5C.pdf.
- EMA, regulatory. (2018). Recollit de https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/quality-biotechnological-products-stability-testing-biotechnological/biological-products_en.pdf.
- Gerhard Hannig, S. C. (1998). “Strategies for optimizing heterologous protein expression in *Escherichia coli*”. *Trends in Biotechnology*, 54-60.
- Hogquist, K. A. (2016). OKT3 and H57-597: “From Discovery, to Commercialization, to the Clinic”. *J Immunol*, 3429-3430.
- Johnson, I. (1983). “Human insulin from recombinant ADN technology”. *Science* , 632-637.
- Khan, K. H. (2013). “Gene Expression in Mammalian Cells and its Applications”. *Adv Pharm Bull.*, 257-263.
- Rabinow, P. (1996). *Making PCR: A Story of Biotechnology*. University of Chicago Press.
- Sanjeev K.Gupta, P. S. (2016). “Review Article Advanced technologies for improved expression of recombinant proteins in bacteria”: perspectives and applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1089-1098.
- Tian J, M. K. (2009). “Advancing high-throughput gene synthesis technology”. *Mol Biosyst*, 714-722.

2.2. Anticuerpos Monoclonales

Antoni Iborra

En los años 70, el descubrimiento de dos tecnologías tuvieron una importancia fundamental en el desarrollo de lo que hoy conocemos como medicamentos biotecnológicos: la ingeniería plasmídica (1) y la tecnología de generación de hibridomas secretores del anticuerpo monoclonal (mAb) (2).

Respecto a la tecnología de generación de hibridomas, en el 1975 Köhler y Milstein (2) establecieron una línea celular de mieloma murino que, fusionada con los esplenocitos procedentes del bazo de un ratón inmunizado, permitieron la obtención de una línea de hibridomas secretores de anticuerpo monoclonal (mAb). La línea de mieloma presentaba una mutación para el gen, hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT), enzima indispensable para la síntesis de ADN. Köhler y Milstein aprovecharon esta deficiencia como un marcador de selección de hibridomas. Si se producía una fusión mieloma-esplenocito, el hibridoma podía sobrevivir en un medio hipoxantina-aminopterina-timidina (HAT), que bloquea la síntesis de nucleótidos de novo, gracias a la vía de salvamento proporcionada por los esplenocitos, las células de mieloma sin fusionar se perdían debido a su incapacidad para producir nucleótidos, ya que la aminopterina del HAT bloquea la ruta de síntesis de purinas y pirimidinas, mientras que las células B no fusionadas solo sobreviven a corto plazo (2-4).

Esta estrategia de fusionar las células, seleccionarlas en función de su capacidad de supervivencia en el medio HAT y la posibilidad de detectar la presencia de anticuerpos específicos segregados por los hibridomas, se convirtió en el fundamento de la producción de mAbs y, solo diez años más tarde, culminó con la aprobación por parte de la FDA de la primera herramienta terapéutica basada en mAbs, el anticuerpo monoclonal anti-CD3 denominado muromonab-CD3(OKT-3) para prevenir el rechazo de trasplante renal (5).

A pesar que se preveía que la terapia basada en mAbs podía ser un hito revolucionario de la medicina, su estreno quedó muy lejos de las ex-

pectativas. El origen 100% murino de estos anticuerpos monoclonales supuso un problema por dos motivos: el reconocimiento y activación del sistema de complemento humano (6) y el hecho que los pacientes desarrollasen anticuerpos contra los anticuerpos de origen murino (HAMAs) (7), estos hechos comportaban la eliminación rápida de los anticuerpos monoclonales y la consiguiente pérdida de la función terapéutica en los tratamientos de larga duración. Estos anticuerpos monoclonales murinos se han utilizado con éxito en acciones a corto plazo, como el diagnóstico de tumores con el uso de los mAbs unidos a radioisótopos. Debido a las complicaciones que una respuesta HAMA puede inducir en el paciente (7,8), la mayoría de los anticuerpos murinos generados ya no se utilizan como herramientas terapéuticas. Actualmente, solo el muromonab-CD3 sin conjugar mantiene la aprobación por parte de la FDA (9).

Esta primera generación de anticuerpos monoclonales dio lugar a una segunda generación de mAbs que tenía por objetivo primordial disminuir la inmunogenicidad haciéndolos más humanos. Los representantes de esta segunda generación son los anticuerpos quiméricos y los anticuerpos humanizados, ambos obtenidos gracias a la combinación de la ingeniería genética y la tecnología de hibridomas. Los primeros mAbs quiméricos fueron descritos prácticamente de forma simultánea el año 1984 (10,11) y, solo diez años más tarde, la FDA aprobó la primera herramienta terapéutica químérica, el abciximab, para la prevención peri-quirúrgica de trombosis para intervenciones de arteria coronaria (12). Actualmente disponemos de ocho quiméricos no conjugados y un químico biosimilar aprobados por la FDA para aplicación clínica (9). A pesar de que los anticuerpos monoclonales químéricos son aproximadamente un 75% humano en origen y presentan una menor inmunogenicidad que los mAbs murinos, su administración continua generando una respuesta de anticuerpos humanos contra el anticuerpo terapéutico químérico (7,13).

Los nuevos conocimientos aportados sobre la región determinante de la complementariedad (del inglés Complementary Determining Region o CDR), secuencia corta de aminoácidos que se encuentra en los dominios variables de los anticuerpos con función de receptor de antígenos, que complementa el antígeno y por tanto define su especificidad para el antígeno en particular, fueron acoplados en los anticuerpos químéricos, lo que permitió obtener un producto que mantenía la especificidad del

antígeno reconocido, gracias al componente murino, pero que en origen era aproximadamente un 95% humano; el primer anticuerpo humanizado (14). Actualmente, disponemos de unos 20 mAbs humanizados no conjugados aprobados por la FDA (9). A pesar del avance que han significado los mAbs humanizados, todavía no se descarta totalmente una respuesta anti- anticuerpo humanizado (HAHAs). El alto contenido de origen humano se asocia a una disminución de la inmunogenicidad del agente terapéutico, pero no se puede rechazar que aparezca una respuesta inmunitaria por la presencia de los CDRs de origen murino (15).

El objetivo de la tercera generación de mAbs terapéuticos se centró en la producción de anticuerpos 100% humanos. Forman parte de esta generación los anticuerpos obtenidos mediante la tecnología de *phage display* (16) aplicada a los mAbs con éxito por McCafferty el año 1990 (17), hecho que representó una revolución en la ingeniería de anticuerpos. El año 2002, la FDA aprobó el primer mAb totalmente humano, el adalimumab (18) para el tratamiento de diversas enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias. Actualmente hay diecisiete anticuerpos humanos no conjugados aprobados para uso clínico (9).

Esta tercera generación de mAbs también engloba la obtención de mAbs a partir de modelos de animales transgénicos, en los que se intenta silenciar los genes de inmunoglobulina endógena en ratones e introducir sus homólogos humanos con el objetivo de humanizar el sistema inmunitario murino (19). Estos modelos permiten la inmunización de los ratones humanizados con el antígeno de interés y la obtención de los mAbs con la tecnología de hibridomas. En el 2006, la FDA aprobó el primer anticuerpo totalmente humano producido por la tecnología transgénica, el panitumumab, un anti-receptor del factor de crecimiento epidérmico (anti-EGFR) desarrollado mediante la plataforma XenoMouse (Abgenix/Amgen) (20).

Sin embargo, incluso con el uso de anticuerpos humanos se observan respuestas de rechazo contra el anticuerpo en pacientes tratados con anticuerpos humanos (21). Es necesario aceptar que puede resultar poco probable que consigamos eliminar por completo la posibilidad de aparición de reacciones adversas contra los mAbs terapéuticos y sus derivados. Los últimos mAbs terapéuticos aprobados por la FDA son, en general, bien tolerados y las bajas proporciones de riesgo de respuesta en contraste con

el beneficio terapéutico que comportan favorecen su uso (21).

Los mAbs desarrollados a lo largo de las tres generaciones se han propuesto como herramientas eficaces por su capacidad de unión específica a un antígeno concreto, y ha existido un objetivo adicional que trata de aumentar sus capacidades utilizando modificaciones químicas. Los primeros mAbs se utilizaron, unidos a radioisótopos capaces de unirse a células o tejidos específicos, en el campo del diagnóstico de tumores. Estos mAbs marcados permiten detectar el tamaño y la ubicación mediante un análisis de tomografía computada por emisión. Este mismo principio también ha proporcionado diferentes agentes quimioterapéuticos específicos de células malignas basados en la conjugación de sustancias al mAb, que permiten minimizar la citotoxicidad colateral al tejido sano (22). Actualmente, en el mercado disponemos de dos conjugados de anticuerpos (ADC, del inglés Antibody Drug Conjugate), el brentuximab vedotin, un mAb quimérico contra el receptor CD30, y el ado-trastuzumab emtansina, una versión modificada del mAb trastuzumab anti-receptor HER2/neu. Mientras que el trastuzumab frena el crecimiento del tumor en el cáncer de mama metastásico HER2 positivo, el ado-trastuzumab emtansina ejerce un efecto citotóxico adicional capaz de inhibir el conjunto de microtúbulos (22). Hoy disponemos de nueve mAbs modificados aprobados por la FDA (9).

Los diferentes mAbs producidos por la tecnología de hibridomas, del ADN recombinante, *phage display* o mediante la utilización de modelos de animales transgénicos, han abierto la posibilidad de producir agentes biológicos para el tratamiento de muchas enfermedades, que incluyen enfermedades autoinmunitarias, cáncer, trastornos sanguíneos, entre otros. Sus mecanismos de acción son diversos y a pesar de ello, los diferentes mAbs se pueden clasificar en función de cinco características: su citotoxicidad, la modulación de la activación/interacción celular, la inhibición del crecimiento y proliferación, la modulación de la señalización inmune y la neutralización de agentes extraños (9).

En el año 2017, la FDA tenía aprobados el uso de 31 mAbs terapéuticos y unos 250 mAbs estaban en diferentes fases de estudio clínico, pendientes de aprobación. La importancia de los mAbs en el campo de los medicamentos biotecnológicos se hace patente en el hecho de que solo cinco de estos mAbs, infliximab (Remicade), rituximab (Rituxan),

trastuzumab (Herceptin), bevazumab (Avastin) i adalimumab (Humira), generaron, en el 2008, ventas por un valor superior a cuatro mil millones de dólares, y las ventas globales del sector superaron los treinta mil millones de dólares aquel mismo año (23,24). El uso de los anticuerpos monoclonales en terapéutica es una realidad que se tendrá que consolidar en los próximos años con nuevos retos.

Bibliografía

- (1) Cohen SN., Chang AC., Boyer HW, Helling RB., 1973. “Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70 (11), 3240–3244.
- (2) Köhler G., Milstein C., 1975. “Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity”. *Nature*, 256 (5517), 495–497.
- (3) Köhler G., Milstein C., 1976. “Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion”. *Eur. J. Immunol.* 6 (7), 511–519.
- (4) Ribatti D., 2014. “From the discovery of monoclonal antibodies to their therapeutic application: an historical reappraisal”. *Immunol. Lett.* 161 (1), 96–99.
- (5) Brekke OH., Sandlie I., 2003. “Therapeutic antibodies for human diseases at the dawn of the twenty-first century”. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2 (1), 52–62.
- (6) Bruhns P., 2012. “Properties of mouse and human IgG receptors and their contribution to disease models”. *Blood* 119 (24), 5640–5649.
- (7) Clark M., 2000. “Antibody humanization: a case of the ‘Emperor’s new clothes’?” *Immunol. Today* 21 (8), 397–402.
- (8) Hwang WY., Foote J., 2005. “Immunogenicity of engineered antibodies”. *Methods* 36 (1), 3–10.

- (9) Rodgers KR., Chou RC. 2016. “Therapeutic monoclonal antibodies and derivatives: Historical perspectives and future directions”. *Biotech Advances* 34, 1149-1158.
- (10) Morrison SL., Johnson MJ, Herzenberg LA., Oi VT., 1984. “Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81 (21), 6851–6855.
- (11) Boulianane GL., Hozumi N., Shulman MJ, 1984. “Production of functional chimaeric mouse/human antibody”. *Nature* 312 (5995), 643–646.
- (12) Lefkovits J., Topol EJ., 1995. “Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitors in ischemic heart disease”. *Curr. Opin. Cardiol.* 10 (4), 420–426.
- (13) Lee SJ., Chinen J., Kavanaugh A., 2010. “Immunomodulator therapy:monoclonal antibodies, fusion proteins, cytokines, and immunoglobulins”. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125 (2 Suppl 2), S314–S323.
- (14) Jones PT., Dear PH., Foote J., Neuberger MS., Winter G., 1986. “Replacing the complementarity- determining regions in a human antibody with those from a mouse”. *Nature* 321 (6069), 522–525.
- (15) Harding FA., Stickler MM., Razo J., DuBridge RB., 2010. “The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions”. *mAbs* 2 (3), 256–265.
- (16) Smith GP., 1985. “Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface”. *Science* 228 (4705), 1315–1317.
- (17) McCafferty J., Griffiths AD., Winter G., Chiswell DJ., 1990. “Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains”. *Nature* 348 (6301), 552–554.
- (18) Winter G., Griffiths AD., Hawkins RE., Hoogenboom HR., 1994.

- “Making antibodies by phage display technology”. *Annu. Rev. Immunol.* 12, 433–455.
- (19) Scott CT., 2007. “Mice with a human touch”. *Nat. Biotechnol.* 25 (10), 1075–1077.
- (20) Jakobovits A., Amado RG., Yang X., Roskos L., Schwab G., 2007. “From XenoMouse Technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice”. *Nat. Biotechnol.* 25 (10), 1134–1143.
- (21) Hansel TT., Kropshofer H., Singer T., Mitchell JA., George AJ., 2010. “The safety and side effects of monoclonal antibodies”. *Nat. Revs. Drug Discov.* 9 (4), 325–338.
- (22) De Goeij BE., Lambert JM., 2016. “New developments for anti-body-drug conjugate-based therapeutic approaches”. *Curr. Opin. Immunol.* 40, 14–23.
- (23) Yamada T. “Therapeutic monoclonal antibodies”. *Keio J Med* 2011;37–46.
- (24) Meyer-Tamaki KB., 2017. *A comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development*. Second Edition 617-645. Academic Press, Michigan.

3. APLICACIONES TERAPÉUTICAS. MEDICAMENTOS BIOTECNOLÓGICOS

Susana Clemente Bautista. Jose Bruno Montoro Ronsano.

La insulina humana fue el primer medicamento de origen biotecnológico desarrollado a principios de los ochenta para el tratamiento de la diabetes mellitus insulino dependiente. Desde entonces hemos asistido al desarrollo, entre otros, de anticuerpos monoclonales, factores de crecimiento, vacunas, citoquinas, moléculas antisentido y otras proteínas recombinantes (1).

El desarrollo de la biotecnología ha permitido identificar dianas terapéuticas muy concretas y diseñar así medicamentos altamente específicos dirigidos contra estas dianas. El tratamiento casi “a la carta” de ciertas enfermedades ha logrado alcanzar tasas de supervivencia e incrementos en la calidad de vida de los pacientes, que no podíamos imaginar hace pocos años. El avance terapéutico alcanzado es de una gran dimensión, pero por otra parte, el uso de medicamentos biotecnológicos supone un elevado impacto presupuestario para el sistema sanitario (1).

En cifras de gasto farmacéutico global, el mercado farmacéutico alcanzó, en el 2017, la cifra de 996.000 millones de \$, y las expectativas para el 2018 son las de ultrapasar el billón de \$. El primer mercado mundial fue el de Estados Unidos con 453.000 millones de \$, y el tercero Europa, con 214.000 millones de \$ (2). En este contexto, los medicamentos de origen biotecnológico ocupan un lugar muy destacado. La Tabla 1 presenta el listado de los 10 fármacos más importantes en términos de ventas globales el 2017 (2). De los diez productos, siete son biotecnológicos y el líder mundial de ventas – el adalimumab, con 18.427 millones de \$ - es uno de ellos. La presencia de biotecnológicos fue aún más acentuada en el año 2016 (3). Por otra parte, el fármaco más caro, expresado en coste en \$ por mes de tratamiento, es el interferón gamma, con 53.321 \$/mes, también un biotecnológico (2). También se tiene que

señalar, que entre los diez fármacos más prescritos ninguno de ellos es un fármaco biotecnológico.

Principales áreas terapéuticas

Los medicamentos biotecnológicos aprobados hasta hoy presentan aplicaciones terapéuticas en áreas tan diversas como puede ser cáncer, enfermedades autoinmunes o el tratamiento del rechazo en trasplante.

Terapia antineoplásica

Actualmente, la terapia antineoplásica es el área terapéutica con un mayor número de medicamentos biotecnológicos comercializados. Ello se debe a que se han identificado numerosos antígenos que se sobre expresan en las células tumorales. A continuación se describen medicamentos biotecnológicos utilizados en oncología (1,5-7) (Tabla 2).

Terapia para el tratamiento de enfermedades inflamatorias

Las enfermedades inflamatorias inmunomediadas (artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, psoriasis, Crohn, colitis ulcerosa, uveítis,...) comparten una inflamación crónica sistémica. Por ello, son susceptibles de tratamiento con medicamentos biotecnológicos con dianas terapéuticas comunes:

- Citoquinas proinflamatorias (TNF y diferentes interleuquinas: 1,6,10,12,23)
- Linfocitos B (CD20).
- CTLA-4
- Integrinas $\alpha 4\beta 7$

La mayoría de medicamentos biotecnológicos (infliximab, adalimumab, etanercept, certolizumab, golimumab i tocilizumab) indicados para estas patologías inhiben el TNF- α . No obstante, muchos de los nuevos medicamentos se dirigen a nuevas dianas terapéuticas (1,5-7) (Tabla 3).

Terapia de enfermedades lisosomales

Las enfermedades lisosomales son enfermedades minoritarias que se producen por un déficit de enzimas específicos intralisosomales o del sistema de proteínas transportadoras, del núcleo al citoplasma, encargadas de la hidrólisis ácida de macromoléculas situadas en el interior de

los lisosomas. Este defecto enzimático produce un acumulo progresivo del sustrato correspondiente en diferentes tejidos, lo que induce una enfermedad crónica y multiorgánica.

Durante los últimos años se ha progresado mucho en el tratamiento de las enfermedades lisosomales. Anteriormente, no existían tratamientos específicos y el manejo consistía únicamente en curas de soporte y tratamiento de las complicaciones. Desde que la terapia de sustitución enzimática se introdujo en el tratamiento de los pacientes con enfermedad de Gaucher, se ha considerado esta estrategia para el tratamiento de otras enfermedades lisosomales (7) (Tabla 4).

Terapia de otras enfermedades minoritarias

Las enfermedades raras, minoritarias o huérfanas son aquellas que presentan una prevalencia de 5 casos por cada 10.000 habitantes en la comunidad. Hasta el momento se han identificado unas 7000 enfermedades raras, mayoritariamente crónicas y sin posibilidad de curación. El 95% de las más de 7000 enfermedades raras que existen no disponen de ningún tratamiento aprobado.

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) y el síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa) presentan una activación crónica e incontrolada del sistema del complemento con consecuencias graves y potencialmente mortales. Por otra parte, Nusinersen es el primer medicamento que se autorizó para el tratamiento de la atrofia muscular espinal 5q, una enfermedad neuromuscular grave y progresiva, que conduce a la muerte prematura en las formas más graves y con una morbilidad muy relevante en las formas que llegan a la edad adulta. La aparición de estos nuevos medicamentos biológicos en el mercado ha mejorado la calidad de vida de los pacientes y el pronóstico de estas enfermedades (7) (Tabla 5).

Terapia en trasplante de órganos sólidos

El rechazo inmunológico es la principal complicación del trasplante. La aparición de nuevos medicamentos biológicos para la profilaxis y tratamiento del rechazo ha aumentado la supervivencia del injerto. Para la profilaxis del trasplante de órganos sólidos (TOS) se utiliza el biológico basiliximab (anticuerpo que se une al antígeno CD25 de los linfocitos T) aunque solo tiene la indicación aprobada para el trasplante de riñón. Por otra parte, el Alemtuzumab es otro anticuerpo monoclonal que bloquea

el CD52 de la superficie de los linfocitos T y B y que ha sido utilizado, en algún centro, como agente inductor de profilaxis. Respecto al rechazo humoral en TOS, el tratamiento se funda en la extracción de anticuerpos por inmunoadsorción o por recambios plasmáticos terapéuticos, conjuntamente con tratamientos complementarios (con una gran variabilidad entre los diferentes equipos de trasplante). Entre estos tratamientos complementarios hay una parte importante que son medicamentos biológicos: rituximab (CD20), ofatumumab (CD20) i eculizumab (C5) (1, 5-7).

Terapia en asma

Un porcentaje importante de pacientes con asma no están controlados a pesar de tener un tratamiento adecuado. En la actualidad se están desarrollando terapias biológicas, en particular anticuerpos monoclonales frente a dianas selectivas, como alternativa al tratamiento convencional para el asma grave no controlado. El tratamiento del asma grave alérgico con omalizumab (anticuerpo monoclonal anti-IgE) ha demostrado ser eficaz y seguro en un número elevado de pacientes. Nuevos anticuerpos anti-IgE con mejores propiedades farmacodinámicas se encuentran en fase de estudio. Entre otras terapias disponemos de medicamentos biológicos dirigidos al bloqueo de citoquinas proinflamatorias como IL-5 (mepolizumab), IL-13 (lebrikizumab) y IL-4 y IL-13 (dupilumab). Esta dos últimas interleuquinas también están implicadas en otras enfermedades atópicas. De hecho, dupilumab tiene indicación solo en dermatitis atópica. Lebrikizumab se encuentra en fase de investigación (fase III) (1, 5-7).

Terapia en intestino corto

La aparición de teduglutide en el mercado ha aumentado de manera considerable la calidad de vida del paciente con intestino corto, dependiente de nutrición parenteral (NP) domiciliaria de por vida. Teduglutide es un análogo del péptido-2 similar al glucagón (GLP-2) con capacidad para restaurar la integridad funcional y estructural del intestino. Promueve la reparación de la mucosa intestinal y disminuye el vaciamiento y la secreción gástrica, así como incrementa la absorción de líquidos y nutrientes.

La mayoría de pacientes se benefician de una disminución en el volumen requerido de NP por semana, de reducción de días de NP a la semana e incluso de una retirada total de la NP. La limitación principal de este tratamiento es su alto coste y que su duración es indefinida (7).

Terapia de enfermedades infecciosas

En enfermedades infecciosas se han desarrollado medicamentos biotecnológicos para la profilaxis y tratamiento de algunos patógenos:

- Palivizumab para la prevención del virus respiratorio sincitial (VRS). El VRS infecta aproximadamente al 75% de los niños durante el primer año de vida y casi el 100% al final del segundo año. Es uno de los factores más determinantes en el incremento de los ingresos hospitalarios durante los meses de invierno, con una mortalidad del 1%. El anticuerpo palivizumab se comercializa con la finalidad de prevenir la infección por el VRS en lactantes de riesgo.
- Raxibacumab para la prevención y tratamiento de *Bacillus antracis* por vía inhalatoria. Es un anticuerpo monoclonal que se une al antígeno PA de la toxina del ántrax. Este medicamento está comercializado en Estados Unidos.
- Interferón α (IFN- α) 2A y el 2B para el tratamiento de la hepatitis B y C.
- Vacunas: en los últimos años se ha progresado notablemente en la identificación de genes y proteínas de los agentes patógenos, lo que ha supuesto la posibilidad de diseñar nuevas, mejores y más selectivas vacunas. Los objetivos más importantes que se persiguen con el desarrollo de vacunas basadas en proteínas recombinantes, en relación con las vacunas de que disponemos, son que sean más potentes (por ejemplo la vacuna del carbunclo), más seguras y mejor caracterizadas (vacuna de la hepatitis B), o que tengan un mayor espectro de protección frente a diversos serotipos de una bacteria en concreto (*Neisseria meningitidis B*), que sean más fáciles de administrar y que produzcan menos reacciones adversas. Actualmente se están desarrollando investigaciones en vacunas contra el virus del papiloma, la malaria, el citomagalovirus, la shigella, el herpes y la toxoplasmosis. También se están probando vacunas contra el virus de la inmunodeficiencia humana adquirida (VIH), el cólera, el dengue, y varios tipos de cáncer. Al mismo tiempo, se están estudiando nuevas vías de administración como la nasal.

Actualmente también se encuentran en fase de desarrollo anticuerpos monoclonales para el tratamiento de infecciones frente a otros tipos de virus como: hepatitis B, hepatitis C, *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa negativos, metapneumovirus, papiloma humano, VIH y para toxinas como la enterotoxina B estafilocócica (1, 5-7).

Terapia cardiovascular

Alirocumab y Evolocumab son anticuerpos monoclonales que pertenecen a una nueva clase de hipolipemiantes: los inhibidores de la pro proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9). Por su novedoso mecanismo de acción, y por su capacidad para reducir los niveles de c-LDL, se han posicionado como un nuevo escalón dentro del arsenal terapéutico de las dislipemias.

Por otra parte, disponemos de Abciximab, uno de los primeros anticuerpos comercializados en nuestro país. Abciximab está dirigido contra el receptor de glicoproteína (GP) IIb/IIIa localizado en la superficie de las plaquetas humanas. Abciximab inhibe la agregación plaquetaria evitando la unión del fibrinógeno, del factor de von Willebrand y otras moléculas adhesivas a las zonas del receptor GPIIb/IIIa en las plaquetas activadas. Está indicado en el tratamiento (asociado a la Aspirina y heparina) de la intervención coronaria percutánea y en la angina inestable (1,5-7).

Terapia con anticoagulantes

El idarucizumab es un agente de reversión específica para el anticoagulante dabigatran. Es un fragmento de anticuerpo monoclonal humanizado que se une al dabigatran con una afinidad muy elevada; aproximadamente 300 veces más potente que la afinidad de unión de dabigatran a la trombina. Esta unión neutraliza su efecto anticoagulante. No revierte, en cambio, los efectos anticoagulantes de los inhibidores del factor X, como por ejemplo rivaroxaban, apixaban i edoxaban. Está indicado en adultos tratados con dabigatran etexilate cuando se necesita una reversión rápida de sus efectos anticoagulantes (7).

Terapia de la degeneración macular

Los fármacos antiangiogénicos han sido la gran revolución en el tratamiento de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) ya que han permitido, por primera vez, cambiar el curso natural de la enfermedad logrando, en algunos casos, mejorar la agudeza visual y mantenerla en la mayoría. El tratamiento más eficaz, en este momento, es la inyección intravitreal directa de preparados que actúen frente al factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A), que es uno de los agentes más importantes involucrados en el estímulo angiogénico. Bevacizumab y Ranibizumab se unen al VEGF-A impidiendo su unión a sus receptores en la superficie de las células endoteliales. Aflibercept además de inhibir

el VEGF-A, inhibe el VEGF-B y el factor de crecimiento plaquetario (PIGF). Bevacizumab no tiene la indicación aprobada para DMAE (7).

Terapia de la osteoporosis

Denosumab es un anticuerpo monoclonal que se dirige con gran afinidad y especificidad al ligando del receptor activador para el factor nuclear k-B (RANKL), impidiendo la activación de su receptor, RANK, en la superficie de los precursores de los osteoclastos y en los osteoclastos. Así, se inhibe la formación, función y supervivencia de los osteoclastos, provocando la disminución de la resorción ósea en el hueso trabecular y cortical (7).

Terapia de la esclerosis múltiple

Actualmente no se conoce un tratamiento efectivo para la esclerosis múltiple (EM). Entre los medicamentos biotecnológicos comercializados en el tratamiento de la EM tenemos el interferón beta 1a, el interferón beta 1b, el peginterferón beta 1a y los anticuerpos monoclonales: alemtuzumab (anti-CD52), natalizumab (anti- α 4-integrina) y el, recientemente comercializado, ocrelizumab (anti-CD20) (1,5-7).

Terapia de la hemofilia

La Federación Mundial de Hemofilia (FMH) recomienda enfáticamente el uso de concentrados derivados de plasma sometido a procesos de inactivación viral o concentrados recombinantes en lugar de crioprecipitados o plasma fresco congelado para el tratamiento de la hemofilia y otros trastornos hereditarios de la coagulación.

Entre los factores recombinantes (7):

- Factor VIIa recombinante.
- Factor VIII recombinante: octocog alfa, lonoctocog, moroctocog alfa, rurioctocog alfa pegol, efmoroctocog alfa, turoctocog alfa, simoctocog alfa.
- Factor IX recombinante: nonacog; albutrepenonacog (proteína de fusión recombinante que une el factor IX de coagulación con la albúmina (rIX-FP); eftrenonacog alfa (proteína de fusión recombinante que une el factor IX de coagulación recombinante humano con el Fc (rFIXFc). Estas proteínas de fusión ofrecen una vida media mayor en comparación a la de los factores IX utilizados hasta ahora.
- Factor XIII recombinante: catridecacog.

Tabla 1. Lista de los primeros diez fármacos prescritos a nivel global, en términos de gasto, para el año 2017 (de Linsley CW, 2018)

rank	product	generic name	company	sales (US \$BN)	% change vs 2016
1	Humira	adalimumab	AbbVie	18.427	+14.6
2	Rituxan	MabThera	Roche/ Biogen	9.238	+2.0
3	Revlimid	lenalidomide	Celgene	8.187	+17.4
4	Enbrel	etanercept	Amgen/ Pfizer	7.885	-11.1
5	Herceptin	trastuzumab	Roche	7.441	+3.4
6	Eliquis	apixaban	BMS/Pfizer	7.395	+46.3
7	Remicade	Infliximab	JNJ/Merck	7.152	-13.1
8	Avastin	bevacizumab	Roche	7.096	-1.4
9	Xarleto	Rivaroxaban	Bayer/JNJ	6.589	+11.3
10	Eylea	Aflibercept	Bayer/ regeneron	6.034	+9.4

Tabla 2. Medicamentos biotecnológicos en oncología, diana terapéutica e indicaciones aprobadas

Fármaco	Diana terapéutica	Indicaciones aprobadas
Alemtuzumab	CD52	Leucemia limfocítica crónica.
Atezolizumab	PDL1	Carcinoma urotelial. Cáncer de pulmón no microcítico.
Bevacizumab	VEGF	Carcinoma metastásico de colon o recto. Cáncer de mama metastásico. Cáncer de pulmón no microcítico, no ressecable, metastásico o recidivante. Cáncer de células renales.
Cetuximab	EGFR	Cáncer colorrectal metastásico. Cáncer de células escamosas de cabeza y cuello.

Daratumomab	CD38	Mieloma múltiple.
Dinutuximab	gangliósido GD2	Neuroblastoma de alto riesgo en pacientes de 12 meses a 17 años.
Durvalumab	PDL1	Cáncer de pulmón no microcítico en estado III irresecable (aprovado por FDA no EMA).
Elotuzumab	SLAMF7 (CD319)	Mieloma múltiple.
Gentuzumab ozogamicina	CD33	Leucémia mieloide aguda CD33+
Ibrutumomab-tiuxetan	CD20	Limfoma folicular no tractados. Limfoma no Hodgkin (LNH) folicular de célules B CD20+ en recaída o refractario a rituximab.
Inolimumab	CD25	Dolencia injerto contra el huésped.
Inotuzumab ozogamicina	CD22	Leucémia linfoblástica aguda de precursores de limfòcits B positivos por CD22 recidivante o refractaria.
Ipilimumab	CTLA-4	Melanoma avanzado
Necitumumab	EGFR	Cáncer de pulmón no microcítico escamoso localment avanzado o metastático.
Nivolumab	PD-1	Melanoma. Cáncer de pulmón no microcítico. Carcinoma de célules renales. Limfoma de Hodgkin clásico. Cáncer de célules escamosas de cabeza y cuello. Carcinoma urotelial.
Obinutuzumab	CD20	Leucémia linfática crónica. Limfoma folicular.
Ofatumumab	CD20	Leucémia linfocítica crónica.
Olaratumab	PDGFR α	Sarcoma de tejidos blandos.

Panitumumab	EGFR	Cáncer colorrectal metastásico con RAS no mutado.
Pertuzumab	HER2	Cáncer de mama metastásico. Tratamiento neoadjuvant del cáncer de mama.
Ramucirumab	Receptor 2 del VEGF	Cáncer gástrico avanzado o adenocarcinoma de la unión gastroesofágica. Cáncer colorectal metastásico. Cáncer de pulmón no microcítico localment avanzado o metastásico.
Rituximab	CD20	Limfoma no-Hodgkin (LNH). Leucémia linfática crónica.
Siltuximab	IL-6	Dolencia de Castleman.
Trastuzumab	HER2	Cáncer de mama HER2 positivo (metastásico o precoz). Cáncer gástrico metastásico.
Trastuzumab-emtansina	HER2	Cáncer de mama HER2 positivo localmente avanzado irreesecable o metastásico.
Aldesleucina (IL-2)		Cáncer metastásico de célules renales.
Interferó alfa (IFN-alfa)		Tricoleucémia. Leucémia mieloide crónica. Mieloma múltiple. Linfoma folicular. Tumor carcinoide. Melanoma maligno.

PDL1 (Receptor de muerte programada ligando 1); TNF α (factor de necrosis tumoral alfa); EGFR (factor de creixement epidèrmic); CTLA-4 (antígen 4 del limfòcit T citotòxic); PD-1 (receptor de mort programada); PDGFR α (receptor- α del factor de creixement derivat de plaquetes); HER2 (receptor 2 de factor de creixement epidèrmic humà); receptor 2 del VEGF (factor de creixement endotelial vascular-2); IL (interleukina); FDA (Food and Drugs Administration); EMA (Agència Europea del Medicament).

Tabla 3. Medicamentos biotecnológicos en patologías inflamatorias, diana terapéutica e indicaciones aprobadas

Fármaco	Diana	Indicación
Etanercept	TNF- α	Artritis reumatoide. Artritis idiopática juvenil. Artritis psoriásica. Psoriasis pediátrica en placas. Psoriasis en placas. Espondilitis
Infliximab	TNF- α	Crohn en adultos y niños. Colitis ulcerosa en adultos y pediatría. Artritis psoriásica. Psoriasis. Espondilitis anquilosante.
Adalimumab	TNF- α	Artritis reumatoide. Artritis idiopática juvenil. Espondiloartritis. Artritis psoriásica. Crohn en adultos y niños. Colitis ulcerosa. Psoriasis. Psoriasis pediátrica en placas. Uveitis en adultos y pediátrica. Hidroadenitis supurativa en adultos y adolescentes.
Golimumab	TNF- α	Artritis reumatoide. Colitis Ulcerosa. Espondiloartritis. Artritis psoriásica.
Certolizumab pegol	TNF- α	Crohn adultos (aprobado por FDA no EMA). Artritis reumatoide. Espondiloartritis. Artritis psoriásica.
Vedolizumab	integrina $\alpha 4\beta 7$	Crohn. Colitis ulcerosa.
Tozilizumab	IL-6	Artritis reumatoide. Artritis idiopática juvenil.
Rituximab	CD20	Artritis reumatoide.
Ustekinumab	IL-12/23	Crohn. Psoriasis (aprobado por FDA pero no EMA). Artritis psoriásica (aprobado por FDA pero no EMA).

Abatacept	CD80, CD86	Artritis reumatoide. Artritis psoriàsica. Artritis idiopàtica juvenil.
Anakinra	IL-1	Artritis reumatoide. Síndroms periòdics associats a criopirines. Malaltia d'Still.
Ixekekizumab	IL-17A	Psoriasis en placa. Artritis psoriàsica.
Canakinumab	IL-1	Síndrome de febre periòdica. Síndromes periòdics associats a les criopirines. Síndrome periòdic associat al FNT. Síndrome de hiperimmunoglobulina D /deficiència de mevalonat quinasa. Febre mediterrània familiar. Malaltia d'Still. Gota artrítica.
Secukinumab	IL-17A	Psoriasis en plaques. Artritis psoriàsica. Espondilitis anquilosant.

Tabla 4. Dolencias lisosomales y fármaco

Dolencia Lisosomal	Fármaco
MPS-I (enfermedad de Hurler, síndrome de Herler-Scheie, síndrome de Scheie)	Laronidasa
MPS-II (enfermedad de Hunter)	Idursulfasa
MPS-IV (enfermedad de Morquio)	Elosulfasa
MPS VI (enfermedad de Maroteaux-Lamy)	Galsulfasa
enfermedad de Gaucher	Imiglucerasa, Velaglucerasa
enfermedad de Fabry	Agalsidasa α y Agalsidasa β
enfermedad de Pompe	Alglucosidasa
Déficit de lipasa àcida liposomal (LAL)	Sebelipasa alfa

Tabla 5. Fármaco, diana terapéutica e indicación en dolencias minoritarias

Fármaco	Diana	Indicación
Eculizumab	Proteina del complemento C5	HPN SHUa Miastenia gravis generalizada
Nusinersen	Oligonucleòtid antisentido que aumenta la proporción de inclusión del exon 7 en los transcritos del acido ribonucleico mensajero (ARNm) del gen de supervivéncia de la neurona motora 2 (SMN2).	Atròfia muscular espinal 5q

Bibliografía

- (1) Jorge Enrique Machado-Alba. “Los medicamentos de origen biotecnológico, el futuro comienza ahora”. *An. Real Acad. Farm.* Vol. 80, N° 1 (2014): 49-90.
- (2) Urquart L. “Top drugs and companies by sales in 2017”. *Nat Rev Drug Discovery* 2018, 17: 232.
- (3) Linsdley CW. “New 2017 data and statistics for pharmaceutical products”. *ACS Chem Neurosci* 2018, 9: 1518-19.
- (4) Linsdley CW. “New 2016 data and statistics for global pharmaceutical products and projections through”. *ACS Chem Neurosci* 2017, 8: 1635-6.
- (5) <http://www.actip.org/products/monoclonal-antibodies-approved-by-the-ema-and-fda-for-therapeutic-use> (consultat: 3/07/18)
- (6) Anticuerpos monoclonales terapéuticos. Informe de vigilancia tecnológica. https://web.archive.org/web/20120621091802/http://www.gen-es.org/assets_db/publications/documents/pub_77_d.pdf (consultat: 3/07/18)
- (7) Consulta fitxes tècniques: <https://www.aemps.gob.es/cima/publico/home.html> (consultat: 3/7/18)

4. EFECTOS ADVERSOS. FARMACOVIGILANCIA

Elena Gonzàlez. David Conde

4.1. Introducción

Los fármacos biotecnológicos incluyen una gran variedad de indicaciones y dianas terapéuticas, por lo que realizar una valoración global de su seguridad es una tarea compleja. A diferencia de las moléculas pequeñas los fármacos biotecnológicos suelen ser catabolizados a aminoácidos indistinguibles de los endógenos, que serán reciclados en proteínas nuevas o excretados. Por ello, generalmente, no hay producción de nuevas moléculas o metabolitos tóxicos que puedan interaccionar con sistemas celulares de una forma no predicha (1). La excepción serían los conjugados anticuerpo-fármaco que tienen como objetivo potenciar el transporte intracelular del fármaco covalentemente unido al anticuerpo (p.ej: trastuzumab emtasina) (2). En general, son fármacos con un buen perfil de seguridad, aunque la aparición de algún efecto adverso grave inesperado ha llevado a la emisión de alertas de seguridad (Tabla 1). A pesar de ello, estas alertas representan una minoría respecto al total de alertas de seguridad emitidas por las agencias reguladoras.

Los efectos adversos de los fármacos biotecnológicos, al igual que los fármacos de síntesis química, pueden estar asociados o no a su mecanismo farmacológico. Así, entre aquellos efectos adversos no relacionados con acción farmacológica, encontramos las reacciones de hipersensibilidad y las reacciones relacionadas con la infusión. En el grupo de efectos adversos asociados al mecanismo farmacológico destacamos aquéllos relacionados con la interacción del fármaco con su diana (1).

Debido a la gran variedad de fármacos que conforman este grupo, en este capítulo se han destacado aquellos efectos adversos que son más importantes desde un punto de vista cuantitativo (no farmacológico) así como aquellos efectos asociados al mecanismo que, por su relevancia e impacto, se han considerado más importantes. En un tercer grupo se

han incluido los efectos adversos relacionados con la inmunoterapia en oncología, que ha supuesto un cambio de paradigma en el tratamiento del cáncer y cuya toxicidad diferencial merece un nuevo apartado.

Tabla 1. Notificaciones de seguridad de la Agencia Española del Medicamento (AGEMED) relativa a fármacos biotecnológicos.

Fármaco	Ligando/ Diana	Año	Alerta de seguridad
Calcitonina	Osteoclastos	2013	Riesgo de tumores asociado a tratamientos prolongados (2013)
Epoetina- α	Eritropoyetina	2002 2008	Aplasia de células rojas (2002) Progresión tumoral (2008)
Interferons- β	IFN β -1a IFN β -1b	2014	Microangiopatía trombótica y síndrome nefrótico (2014)
Natalizumab	Alfa-4-integrina	2016	Riesgo LMP (2016)
Aflibercept	VEGF-A, VEGF –B	2016	Osteonecrosis mandibular
Infliximab	TNF α	2014	Riesgo de reactivación VHB
Etanercept	TNF α	2014	Riesgo de reactivación VHB
Adalimumab	TNF α	2014	Riesgo de reactivación VHB
Golimumab	TNF α	2014	Riesgo de reactivación VHB
Certolizumab	TNF α	2014	Riesgo de reactivación VHB
Denosumab	RANKL	2014	Osteonecrosis mandibular y riesgo de osteoporosis
Rituximab	CD-20	2014	Riesgo de reactivación VHB
Daclizumab	IL-2	2018	Reacciones inmunes fatales a nivel cerebral. La alerta supuso su retirada del mercado

4.2. Efectos adversos no relacionados con el mecanismo farmacológico

4.2.1. Inmunogenicidad

El evento adverso más frecuente es la aparición de reacciones de hipersensibilidad (1). Los fármacos biotecnológicos son grandes proteínas, complejas y heterogéneas debido a su producción mediante tecnología genética recombinante. Por este motivo, estos agentes terapéuticos podrían ser reconocidos como extraños por el sistema inmune del huésped e inducir una respuesta inmune dirigida hacia la proteína (3,4).

La inmunogenicidad puede estar relacionada con uno o más factores relacionados con el producto (por ejemplo, línea celular seleccionada, cambios postraduccionales y alteraciones de la estructura 3D tras su procesamiento, impurezas, material de condicionamiento), relacionados con el tratamiento (por ejemplo, vía de administración, posología) y relacionados con el paciente o la enfermedad (p.ej., antecedentes genéticos, medicamentos concomitantes, naturaleza de la enfermedad subyacente y estado inmunitario).

La inmunogenicidad preocupa considerablemente, tanto durante el desarrollo de fármacos biotecnológicos, como en la aprobación y post-comercialización. La respuesta inmunológica está asociada habitualmente con la aparición de anticuerpos anti-fármaco (ADA), que pueden afectar negativamente a la eficacia y seguridad del agente terapéutico. A pesar de que la experiencia acumulada permite afirmar que en la mayoría de los casos su aparición no tiene significación clínica, la aparición de ADAs se ha asociado con reacciones alérgicas o anafilácticas graves, eficacia reducida y, raramente, la inducción de autoinmunidad frente a alguna proteína endógena del paciente (3,4). Este último caso se describió entre los años 1998 y 2002, al detectarse un brusco aumento de casos de aplasia de células rojas, en pacientes previamente tratados con epoetina alfa a los que se les había administrado una nueva versión del mismo fármaco (nueva formulación del producto y vía de administración). Conllevó en el 2002 la emisión de una alerta de seguridad. Se detectaron anticuerpos frente a eritropoyetina en 112 de los 136 que disponían de resultados analíticos (5). También otras proteínas terapéuticas como el

factor estimulante de colonias de granulocitos o la hormona de crecimiento humana pueden inducir procesos autoinmunes. Por el contrario, los ADAs formados por la administración de anticuerpos monoclonales (por ejemplo, infliximab, adalimumab, rituximab) pueden conducir a la pérdida o reducción de la eficacia y reacciones infusionales, pero no a reacciones autoinmunes (4,6).

La regulación actual de la EMA obliga a que la inmunogenicidad de los fármacos biotecnológicos sea investigada siempre de forma previa a la aprobación, utilizando métodos actualizados y validados para medir su incidencia, titulaciones, capacidad de neutralización y persistencia de los anticuerpos antifármaco (ADA) así como su correlación con los resultados de exposición, seguridad y eficacia del medicamento (7,8). A pesar de la estricta regulación de la EMA respecto a la evaluación de la inmunogenicidad y su evaluación en los estudios fase 3 es importante destacar que la determinación de la incidencia real de inmunogenicidad en pacientes se realiza principalmente durante la fase post-autorización (3).

Respecto a la evaluación de rutina de la presencia de ADAs existe controversia al respecto. Si bien las guías EULAR de tratamiento de la artritis reumatoide no recomiendan de rutina la evaluación de ADAs y niveles de fármaco (9), varios autores sugieren que dicha evaluación podría ayudar a comprender los mecanismos que subyacen a la respuesta inmune a biológicos para identificar otros factores moduladores para reducir la inmunogenicidad del fármaco (4,10).

Una de las principales preocupaciones actuales, con la llegada de los biosimilares, es el efecto que uno o múltiples cambios entre el medicamento de referencia y el biosimilar en un mismo paciente puedan producir en la aparición de ADAs y reacciones de hipersensibilidad (11).

4.2.2. Reacciones relacionadas con la infusión

Muchos agentes antineoplásicos, incluyendo agentes citotóxicos y biológicos (sobre todo anticuerpos monoclonales), tienen el potencial de causar reacciones relacionadas con la infusión (RRI) (12).

La mayoría de las RRI son de intensidad leve a moderada y se desarro-

llan durante la infusión o poco después, pudiendo manifestarse a nivel: cutáneo (eritema, rubor), cardiovascular (dolor de pecho, taquicardia, hipotensión) respiratorio (disnea, sibilancias), gastrointestinal (náuseas, vómitos, diarrea) o neurológico (confusión, alteraciones visuales).

Sin embargo, un pequeño porcentaje significativo ($\leq 5\%$) de pacientes desarrollará reacciones graves a la infusión, incluyendo un inicio agudo de broncoespasmo, hipotensión, urticaria y / o paro cardíaco.

La explicación más ampliamente aceptada referente al mecanismo de las RRI es la liberación de citoquinas inflamatorias por la unión del anticuerpo monoclonal a su célula diana. Cuando se libera a la circulación periférica, las citoquinas producen una variedad de síntomas características de la reacciones de infusión (12,13).

Las reacciones a la infusión a anticuerpos monoclonales ocurren predominantemente durante la primera infusión. Sin embargo, el 10-30% de las reacciones a los anticuerpos monoclonales se retrasan y pueden ocurrir en infusiones posteriores (12,14,15).

Existe cierta confusión a la hora de utilizar el término de RRI y el de “*hipersensibilidad*”. Para la “*hipersensibilidad*” se requiere la existencia de una base inmunológica y muchas veces las RRIs son clasificadas como “*hipersensibilidades*” de forma incorrecta (16). La National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (NCI-CTC) distingue entre reacciones de hipersensibilidad y reacciones agudas a la infusión inducidas por la liberación de citoquinas (Tabla 2) (17).

Tabla 2. Definiciones para reacciones alérgicas y reacciones relacionadas con la infusión según la National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (17)

	1	2	3	4	5
Reacción relacionada con infusión	<ul style="list-style-type: none"> - Reacción transitoria leve. - Interrupción de infusión no indicada. - Intervención no indicada. 	<ul style="list-style-type: none"> - Interrupción de infusión o terapia indicada pero no responde a tratamiento sintomático (p. antihistamínicos, AINES, opioides, fluidoterapia IV); - Indicado medicamentos profilácticos para ≤ 24 horas 	<ul style="list-style-type: none"> - Prolongado (no responde a tratamiento sintomático ni a interrupción breve de la infusión); recurrencia de los síntomas después de mejora inicial; - Ingreso hospitalario indicado por secuelas clínicas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Consecuencias que comprometen la vida. - Intervención urgente indicada. 	Muerte
Reacción alérgica (reacción hipersensibilidad)	<ul style="list-style-type: none"> - Enrojecimiento transitorio o sarpullido, fiebre medicamentosa < 38°C. - Intervención no indicada 	<ul style="list-style-type: none"> - Interrupción de infusión o terapia indicada pero responde a tratamiento sintomático (p. antihistamínicos, AINES, opioides, fluidoterapia IV). - Indicado medicamentos profilácticos para ≤ 24 horas 	<ul style="list-style-type: none"> - Prolongado (no responde a tratamiento sintomático ni a interrupción breve de la infusión); recurrencia de los síntomas después de mejora inicial. - Ingreso hospitalario indicado por secuelas clínicas (p. ej., deterioro renal, infiltrados pulmonares). 	<ul style="list-style-type: none"> - Consecuencias que comprometen la vida. - Intervención urgente indicada. 	Muerte

1. La reacción alérgica (hipersensibilidad) se define como “un trastorno caracterizado por una reacción adversa local o respuesta general de la exposición a un alérgeno”.
2. La reacción relacionada con la infusión se define como “un trastorno caracterizado por reacción adversa al infusión de sustancias farmacológicas o biológicas”.
3. Los signos y síntomas clínicos asociados con ambos tipos de reacción se superponen.

El grado de humanización del anticuerpo influye en el riesgo de RRI de un anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos de ratón y químicos provocan la mayor frecuencia de respuestas inmunogénicas, mientras que los anticuerpos totalmente humanizados tienen comparativamente una inmunogenicidad relativamente baja (18).

Para prevenir las reacciones relacionadas con la infusión, se recomienda la profilaxis con antihistamínicos, corticosteroides o ambos así como la monitorización estrecha durante e inmediatamente después de todas las infusiones (14,19).

4.3. Efectos adversos relacionados con el efecto farmacológico

4.3.1. Infecciones graves

La introducción de los anticuerpos monoclonales en el tratamiento de las enfermedades inmunomediadas, ha mejorado mucho la calidad de vida de los pacientes con enfermedades reumatólogicas, psoriasis e enfermedad inflamatoria intestinal. Además de las reacciones relacionadas con la infusión, los efectos adversos graves más frecuentemente descritos son las infecciones graves (20). Se describen tasas de infección grave entre 3,8 a 6,4 eventos por 100 pacientes y año en pacientes tratados con anti-TNFs (incluyendo etanercept e infliximab) (21-25).

Por otro lado, estos tratamientos se han relacionado con la reactivación de algunas infecciones latentes como la tuberculosis (TBC) y la hepatitis B

(VHB). Varios estudios han demostrado el tratamiento preventivo con isoniacida durante 9 meses reduce la probabilidad de progresión a tuberculosis activa en pacientes tratados con inmunosupresores biotecnológicos e infección tuberculosa latente. Por ello, es obligatoria la detección de la infección tuberculosa latente y el tratamiento de dicha infección, para reducir el riesgo de progresión a enfermedad tuberculosa (26).

En pacientes con infección crónica (portadores inactivos) o infección pasada por VHB, el tratamiento citotóxico o inmunosupresor puede producir una reactivación de la infección viral (27,28). De hecho, la muerte de un paciente sometido a tratamiento con rituximab en España, en el año 2014 conllevó una notificación de seguridad específica de la AEMPS. La reactivación de VHB se debe a un aumento de la replicación del virus en pacientes portadores inactivos o con infecciones previas. Aunque puede ocurrir en cualquier momento del tratamiento, es frecuente que suceda al final de éste, por el fenómeno de reconstitución inmunológica. Puede cursar desde una forma asintomática hasta una hepatitis fulminante (29). Por ello, las agencias reguladoras así como las organizaciones científicas de estudio de las enfermedades hepáticas (AEEH y EASL) recomiendan realizar el cribado de VHB antes de iniciar la terapia antineoplásica o inmunosupresora e iniciar tratamiento profiláctico en caso necesario (29,30).

Otro de los efectos asociados al fuerte efecto inmunosupresor de algunos de estos fármacos es el riesgo de desarrollo de leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP). El uso de natalizumab, un anticuerpo monoclonal anti- α 4-integrina indicado en el tratamiento de la esclerosis múltiple se ha asociado a un incremento del riesgo de desarrollar LMP. Se trata de una enfermedad desmielinizante causada por un virus oportunista, el virus John Cunningham (virus JC), que suele estar presente en la población general. Se trata de una enfermedad rara pero grave, que puede llegar a provocar la muerte o una gran discapacidad del paciente. Por ello, la EMA ha establecido una serie de recomendaciones para minimizar el riesgo de LMP [31]. El riesgo de LMP también se ha descrito con otros inmunosupresores biológicos, fundamentalmente con rituximab (32,33).

4.3.2. Cardotoxicidad

Actualmente, hay cuatro agentes antineoplásicos comercializados, indicados en el tratamiento del cáncer de mama entre otros, que se dirigen a HER2: trastuzumab, pertuzumab, lapatinib y el conjugado anticuerpo-fármaco trastuzumab emtansine (TDM-1). Trastuzumab es bien conocido por causar miocardiopatía, con reducción de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (34). La incidencia global descrita de disfunción cardíaca fue del 22% en la rama de trastuzumab más quimioterapia, en comparación con solo el 5% para la quimioterapia sola, y el 16% de los pacientes desarrollaron insuficiencia cardíaca clase III o IV según la clasificación de la Nueva York Heart Association (NYHA) . La cardiotoxicidad fue más pronunciada en el grupo que recibió quimioterapia con antraciclina concomitante con trastuzumab. El mecanismo de toxicidad cardíaca por trastuzumab es desconocido, pero se cree que es una consecuencia de la disrupción de la señalización cardíaca de ErbB. La vía de trasducción de señal del HER2 es esencial para la supervivencia del miocito durante los períodos de stress cardíaco, dado que activación de esta vía de trasducción inhibe la apoptosis y mantiene la función del miocito. (35)

La vascularización de los tumores es una parte esencial de la oncogénesis, por lo que se han desarrollado varios agentes dirigidos contra la angiogénesis. Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal para el VEGF, indicado en cáncer colorrectal, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de ovario y gliomas. En un estudio de fase III, se identificó insuficiencia cardíaca inducida por bevacizumab en el 2,2% de los pacientes (36).

La incidencia de hipertensión inducida por bevacizumab en un estudio reciente fue del 19,6% (7,0% grave). Se cree que la hipertensión es una secuela de la inhibición de VEGF que provoca una falta de respuesta a la sobrecarga de presión (37).

Se han descrito otros efectos cardiotóxicos, incluyendo la prevención de la regeneración endotelial, lo que lleva a la liberación del factor tisular activado que puede conducir a eventos trombóticos (38,39).

4.4. Inmunoterapia

La inmunoterapia antitumoral supone un nuevo paradigma de tratamiento del cáncer ya que ha cambiado el curso natural de la enfermedad onco-hematología en tumores hasta ahora con pocas alternativas y pobre pronóstico. Consiste en potenciar la respuesta inmunitaria debilitada del paciente frente a los tumores (inmunoterapia activa) o administrar anticuerpos o linfocitos específicos frente al tumor (inmunoterapia pasiva).

Entre las estrategias de inmunidad activa encontramos la vacunación con antígenos tumorales y el bloqueo de las vías inhibidoras del linfocito T, entre otras. En la inmunoterapia pasiva para los tumores cabe destacar la transferencia celular adoptiva con linfocitos T que expresan receptores químéricos para el antígeno (CAR, *chimeric antigen receptor*) y el tratamiento con anticuerpos antitumorales.

Estas terapias poseen un perfil de toxicidad distinto al resto, y aunque la mayoría son toxicidades leves, pueden ser puntualmente graves o incluso fatales (40,41). Para entender la toxicidad asociada a los ICI (Inhibidores Control Inmunitario) es necesario entender la importancia de los puntos de control inmune que estos anticuerpos bloquean.

Los principales grupos dentro de los inhibidores del punto de control inmune (ICIs) son los inhibidores del antígeno 4 asociado al linfocito T citotóxico (CTLA-4), los inhibidores del receptor de muerte celular programada 1 (PD-1) y los inhibidores del ligando L-1 del PD-1 (PD-L1).

Los estudios muestran un aumento del riesgo de desarrollar efectos adversos relacionados con el sistema inmune (irAEs), siendo los más frecuentes los mucocutáneos, gastrointestinales y endocrinos. La mayoría son efectos adversos leves, pero el desarrollo de irAEs graves en un porcentaje significativo obliga al rápido reconocimiento y manejo.

Existe una clara diferencia en los perfiles de toxicidad de los ICIs frente a la quimioterapia. Según los resultados de un metaanálisis reciente:

-Los inhibidores de PD-1/PD-L1 tienen una menor incidencia de EAs grados 3-5 (G3-5) que el tratamiento con inhibidores de CTLA-4 o quimioterapia.

- La muerte tóxica es menor en el caso de la monoterapia con un inhibidor de PD-1/PD-L1 comparado con el tratamiento con un inhibidor de CTLA-4 o con la quimioterapia, así como el porcentaje de discontinuación del tratamiento.

La combinación de un inhibidor de CTLA-4 con un inhibidor de PD-1/PD-L1 o con quimioterapia, el riesgo de suspensión del tratamiento por toxicidad, así como de aparición de EA G3-5 aumenta considerablemente (42).

La decisión de reanudar la terapia con un ICI después de la resolución de la toxicidad depende de la respuesta al tratamiento. Así, si un paciente alcanzó respuesta objetiva al tratamiento antes de la suspensión por EAs, entonces es posible que esa respuesta sea duradera y el reinicio de la terapia no sea necesario, para evitar el riesgo de recurrencia de la toxicidad. Por el contrario, para los pacientes que aún no habían respondido o inadecuada, puede ser razonable reanudar el tratamiento tras la resolución de la toxicidad (43).

Entre los irAE secundarios más frecuentes (30-50% pacientes afectados) y precoces están los cutáneos como *rash* (el más frecuente), prurito y vitíligo. La mayoría son autolimitados y manejables con esteroides tópicos (44). Raramente pueden ser motivo de suspensión del tratamiento.

También pueden afectar al sistema endocrino siendo los efectos adversos más frecuentes la hipofisitis (9%) y la disfunción tiroidea (15%). La disfunción tiroidea primaria con los ICIs se presenta como una tiroiditis con presencia o no de anticuerpos anti-tiroideos. Suele ser leve. Con la combinación ipilimumab-nivolumab aumenta la incidencia llegando hasta el 9-15%. Es mayor la incidencia de hipotiroidismo, que varía según los estudios entre 1,6-8,9%, mientras que la de hipertiroidismo oscila entre 0,4-3,5% (45).

Otro de los irAE de mayor frecuencia están los gastrointestinales. Lo más común es la diarrea seguida de la colitis. Con el tratamiento con un anti-CTLA-4 la incidencia de colitis varía entre el 8% y el 27% y la de diarrea (54%). Con anti-PD1/PD-L1, la incidencia de diarrea es menor ($\leq 19\%$). La colitis se asemeja a la enfermedad inflamatoria intestinal. La frecuencia de hepatitis es menor (2-10%) y con la combinación aumenta

al 25-30% (15% grado 3) (43,46).

Los EAs musculoesqueléticos son comunes durante el tratamiento con ICIs (40% de los pacientes) como la artritis y los síndromes similares a la polimialgia Parecen ser más frecuentes con los anti-PD-1/PD-L1 y también con la combinación de ambos. El tratamiento sería altas dosis de corticosteroides. A veces son necesarios fármacos modificadores de la enfermedad (FAME) sintéticos o biológicos (43,47).

Los EA observados con la terapia celular adoptiva con células T (CART) modificadas genéticamente pueden englobarse en dos categorías:

- Toxicidad en la diana (*on-target toxicity*), debida a la expresión del antígeno diana en los tejidos normales. Por ejemplo, depleción de células B normales tras la administración de células CART antiCD-19.
- Toxicidad fuera de la diana (*off-target toxicity*), que afecta a órganos y tejidos que no expresan el antígeno diana. Tras la transferencia de células T adoptivas se produce un aumento de niveles de citoquinas inflamatorias, lo que causa toxicidad sistémica, como el síndrome de liberación de citoquinas (41).

Las toxicidades asociadas a la trasferencia de células CART son las mismas que las terapias con células con TCR modificados.

Los EA más comunes asociados a la terapia con células CART son el síndrome de liberación de citocinas (SLC) y la neurotoxicidad manifestada como una encefalitis. También pueden producirse el síndrome de lisísis tumoral y reacciones anafilácticas (48). El síndrome de liberación de citocinas es debida a la activación de un considerable número de células inmunes induciendo la liberación masiva de citocinas interferón- γ (IFN γ), factor de necrosis tumoral α (TNF α) e IL-6, interleucinas 2 y 10 (IL2 e IL-10). Los pacientes con alto riesgo de SLC grave incluyen aquéllos con mayor carga tumoral y con comorbilidades. Los síntomas son fiebre, fatiga, náuseas, hipotensión, hipoxia, anorexia, taquicardia, síndrome de fuga capilar, distrés respiratorio y alteraciones neurológicas. Suelen ser autolimitados y reversibles, pero puede haber casos graves incluyen fallo multiorgánico.

La primera opción de tratamiento son antagonistas de IL-6 como tocilizumab (aprobado por la FDA para el tratamiento del SLC) (48).

La neurotoxicidad, denominada síndrome de encefalopatía relacionada con células CART (CRES, por sus siglas en inglés), es el segundo evento adverso más común. Cursa con un cuadro típico de encefalitis tóxica con síntomas como delirio, confusión, afasia y en casos severos convulsiones y coma.

La neurotoxicidad mayoritariamente es reversible. En casos graves, es necesario el uso de corticoides y antagonistas de IL-6. Los corticoides son útiles porque atraviesan la BHE (Barrera Hemato Encefálica), no así el tocilizumab. Tocilizumab y dexametasona son efectivos en controlar la fiebre y la hipotensión durante el SLC, pero no está claro si la resolución de la neurotoxicidad es por estas intervenciones o por la historia natural de las células CART (proliferación, contracción, quiescencia) (48).

4.5 Farmacovigilancia

Desde 2011, todos los fármacos biotecnológicos aprobados están en seguimiento adicional de su seguridad (49).

Este estado marcado con un triángulo negro, indica que son medicamentos prioritarios para notificación de reacciones adversas. Por ello se requiere que pacientes y profesionales sanitarios comuniquen cualquier sospecha de efectos adversos.

En el año 2016, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) publicó una guía de “Buenas prácticas en farmacovigilancia” (*Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP)*), específica para fármacos biotecnológicos, para mejorar la supervisión y gestión de la seguridad de estos medicamentos (50). Esta regulación especial se fundamenta en la mayor complejidad de los procesos de fabricación.

En relación con la inmunogenicidad, es importante destacar que los estudios fase 3 estiman su incidencia en pacientes únicamente cuando el fármaco tiene una inmunogenicidad relativamente elevada, si se incluye el suficiente número de pacientes y si la respuesta inmunológica se de-

sarrolla durante la duración del estudio (3). Cuando los ensayos clínicos tienen un número de pacientes limitado puede ser difícil sacar conclusiones (50). Todos los fármacos nuevos autorizados después de 2012, incluyendo biosimilares, deben tener un plan de gestión de riesgos (PGR). Para el caso concreto de los fármacos biotecnológicos, si se produce una modificación significativa del proceso de fabricación, también deberá reflejarse en un PGR.

Otro de los aspectos importantes es la farmacovigilancia del cumplimiento de los controles de almacenamiento y manipulación, cadena de frío y buenas prácticas de distribución. La no adherencia a estos procesos podría afectar a la estabilidad y calidad de los productos aumentando el riesgo de contaminación o inmunogenicidad. Por todo ello, es fundamental garantizar la trazabilidad continua del producto, mediante el registro del nombre comercial, lote y caducidad con el fin de reproducir el recorrido completo de cada unidad de medicamento durante todo el proceso, incluyendo las condiciones de conservación durante todo el proceso hasta su administración al paciente (50). Así, la EMA determina que en la información relativa a cada fármaco biológico (ficha técnica, material informativo) tiene que constar la necesidad de registrar el nombre comercial, lote y caducidad en la historia clínica del paciente.

Uno de los principales problemas con el que nos enfrentamos es la falta de informatización en todos los puntos de registro para garantizar la trazabilidad, sobre todo a nivel hospitalario. En la mayoría de hospitales no se dispone de sistemas de lectura automáticos por lo que es necesario el registro manual de toda la información. Por todo ello es fundamental la apuesta desde las instituciones sanitarias por la implantación de herramientas que permitan la automatización de este proceso.

Bibliografía

- (1) Clarke JB. *Adverse Drug Reactions* 2010; 196. doi:10.1007/978-3-642-00663-0.
- (2) EMA. *Kadcyla Summary of Product Characteristics* 2018:1–43.
- (3) Brinks V, Jiskoot W, Schellekens H. “Immunogenicity of therapeutic proteins: The use of animal models”. *Pharm Res* 2011;28:2379–

85. doi:10.1007/s11095-011-0523-5.

- (4) Deehan M, Garcês S, Kramer D, Baker MP, Rat D, Roettger Y, et al. "Managing unwanted immunogenicity of biologicals". *Autoimmun Rev* 2015;14:569–74. doi:10.1016/j.autrev.2015.02.007.
- (5) Agencia española del medicamento y productos sanitarios (AEMPS). *Nota de seguridad: Epoetina Alfa: Contraindicación de la administración por cía subcutánea en pacientes con insuficiencia renal crónica*. 2002.
- (6) Strand V, Balsa A, Al-Saleh J, Barile-Fabris L, Horiuchi T, Takeuchi T, et al. "Immunogenicity of Biologics in Chronic Inflammatory Diseases: A Systematic Review". *BioDrugs* 2017;31:299–316. doi:10.1007/s40259-017-0231-8.
- (7) EMA. "Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use . Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use. Table of contents". *EMA Guidel* 2012;44:1–10. doi:EMA/CHMP/BMWP/86289/2010.
- (8) Agency EM. *Guideline on Immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. Strategy* 2015;44:1–23. doi:EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev. 1.
- (9) Smolen JS, Landewé R, Bijlsma J, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M, et al. "EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update". *Ann Rheum Dis* 2017;76:960–77. doi:10.1136/annrheumdis-2016-210715.
- (10) Ruiz-Argüello MB, Maguregui A, Ruiz Del Agua A, Pascual-Salcedo D, Martínez-Feito A, Jurado T, et al. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars". *Ann Rheum Dis* 2016;75:1693–6. doi:10.1136/annrheumdis-2015-208684.
- (11) Cohen HP, Blauvelt A, Rifkin RM, Danese S, Gokhale SB, Woollett G. "Switching Reference Medicines to Biosimilars: A Systematic Literature Review of Clinical Outcomes". *Drugs* 2018;78:463–78. doi:10.1007/s40265-018-0881-y.

- (12) Chung CH. *Managing Premedications and the Risk for Reactions to Infusional Monoclonal Antibody Therapy*. *Oncologist* 2008;13:725–32. doi:10.1634/theoncologist.2008-0012.
- (13) Brennan PJ, Bouza TR, Hsu FI, Sloane DE, Castells MC. “Hypersensitivity reactions to mAbs: 105 desensitizations in 23 patients, from evaluation to treatment”. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1259–66. doi:10.1016/j.jaci.2009.09.009.
- (14) Lenz H-J. “Management and Preparedness for Infusion and Hypersensitivity Reactions”. *Oncologist* 2007;12:601–9. doi:10.1634/theoncologist.12-5-601.
- (15) Galvão VR, Castells MC. “Hypersensitivity to Biological Agents—Updated Diagnosis, Management, and Treatment”. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2015;3:175–85. doi:10.1016/j.jaip.2014.12.006.
- (16) Baldo B. “Adverse events to monoclonal antibodies used for cancer therapy: Focus on hypersensitivity responses”. *Oncoimmunology* 2013;2:e26333.
- (17) “No Title”. *Common Terminol Criteria Advers Events v40 2009*. http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf (accessed June 10, 2016).
- (18) Thompson LM, Eckmann K, Boster BL, Hess KR, Michaud LB, Esteva FJ, et al. “Incidence, Risk Factors, and Management of Infusion-Related Reactions in Breast Cancer Patients Receiving Trastuzumab”. *Oncologist* 2014;19:228–34. doi:10.1634/theoncologist.2013-0286.
- (19) Moreau P, Van De Donk NWCJ, Miguel JS, Lokhorst H, Nahm H, Ben-Yehuda D, et al. “Practical Considerations for the Use of Daratumumab, a Novel CD38 Monoclonal Antibody, in Myeloma”. *Drugs* 2016;76:853–67. doi:10.1007/s40265-016-0573-4.
- (20) Burmester GR, Panaccione R, Gordon KB, McIlraith MJ, Lacerda APM. “Adalimumab: Long-term safety in 23 458 patients from global clinical trials in rheumatoid arthritis, juvenile idiopathic arthritis, ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, psoriasis and Crohn’s disease”. *Ann Rheum Dis* 2013;72:517–24. doi:10.1136/annrheumdis-2011-201244.

- (21) Galloway JB, Hyrich KL, Mercer LK, Dixon WG, Fu B, Ustianowski AP, et al. "Anti-TNF therapy is associated with an increased risk of serious infections in patients with rheumatoid arthritis especially in the first 6 months of treatment: updated results from the British Society for Rheumatology Biologics Register with special emphasis on risks in the elderly". *Rheumatology* 2011;50:124–31. doi:10.1093/rheumatology/keq242.
- (22) Curtis JR, Jain A, Askling J, Bridges L, Carmona L, Finckh A, et al. "A Comparison of patient characteristics and outcomes in selected european and U.S. rheumatoid arthritis registries". *Semin Arthritis Rheum* 2011;40:2–14. doi:10.1016/j.semarthrit.2010.03.003.A.
- (23) Carmona L, Descalzo MA, Perez-Pampin E, Ruiz-Montesinos D, Erra A, Cobo T, et al. "All-cause and cause-specific mortality in rheumatoid arthritis are not greater than expected when treated with tumour necrosis factor antagonists". *Ann Rheum Dis* 2007;66:880–5. doi:10.1136/ard.2006.067660.
- (24) Listing J, Strangfeld A, Kary S, Rau R, Von Hinueber U, Stoyanova-Scholz M, et al. "Infections in patients with rheumatoid arthritis treated with biologic agents". *Arthritis Rheum* 2005;52:3403–12. doi:10.1002/art.21386.
- (25) Askling J, Fored CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Feltelius N, et al. "Time-dependent increase in risk of hospitalisation with infection among Swedish RA patients treated with TNF antagonists". *Ann Rheum Dis* 2007;66:1339–44. doi:10.1136/ard.2006.062760.
- (26) Mir Viladrich I, Daudén Tello E, Solano-López G, López Longo FJ, Taxonera Samso C, Sánchez Martínez P, et al. "Documento de consenso sobre la prevención y el tratamiento de la tuberculosis en pacientes candidatos a tratamiento biológico". *Arch Bronconeumol* 2016;52:36–45. doi:10.1016/j.arbres.2015.04.016.
- (27) Shouval D, Shibolet O. "Immunosuppression and HBV reactivation". *Semin Liver Dis* 2013;33:167–77. doi:10.1055/s-0033-1345722.
- (28) Kusumoto S, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. "Reactivation of hepatitis B virus following systemic chemotherapy for malignant lymphoma". *Int J Hematol* 2009;90:13–23. doi:10.1007/s12185-

009-0359-5.

- (29) AEMPS. *Nota informativa AEMPS. Reactivación de la Hepatitis V secundaria a tratamiento inmunosupresor*. 2012;7:1-4.
- (30) European Association for the Study of the Liver (EASL). “EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection”. *J Hepatol* 2017;67:370–98. doi:10.1016/j.jhep.2017.03.021.
- (31) European Medicines Agency. *EMA. Recomendaciones para minimizar el riesgo de LMP con Tysabri* 2016;44:1–5.
- (32) Clifford DB, Ances B, Costello C, Rosen-Schmidt S, Anderson M, Parks D, et al. “Rituximab-Associated Progressive Multifocal Leukoencephalopathy in Rheumatoid Arthritis”. *Arch Neurol* 2011;68:1156–64. doi:10.1001/archneurol.2011.103.Rituximab-Associated.
- (33) Molloy ES, Calabrese LH. “Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with immunosuppressive therapy in rheumatic diseases: Evolving role of biologic therapies”. *Arthritis Rheum* 2012;64:3043–51. doi:10.1002/art.34468.
- (34) Cardinale D, Colombo A, Torrisi R, Sandri MT, Civelli M, Salvatici M, et al. “Trastuzumab-induced cardiotoxicity: Clinical and prognostic implications of troponin I evaluation”. *J Clin Oncol* 2010;28:3910–6. doi:10.1200/JCO.2009.27.3615.
- (35) Crone SA, Zhao YY, Fan L, Gu Y, Minamisawa S, Liu Y, et al. “ErbB2 is essential in the prevention of dilated cardiomyopathy”. *Nat Med* 2002;8:459–65. doi:10.1038/nm0502-459.
- (36) Choueiri TK, Mayer EL, Je Y, Rosenberg JE, Nguyen PL, Azzi GR, et al. “Congestive heart failure risk in patients with breast cancer treated with bevacizumab”. *J Clin Oncol* 2011;29:632–8. doi:10.1200/JCO.2010.31.9129.
- (37) Scappaticci FA, Skillings JR, Holden SN, Gerber H-P, Miller K, Kabbinavar F, et al. “Arterial Thromboembolic Events in Patients with Metastatic Carcinoma Treated with Chemotherapy and Bevacizumab”. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2007;99:1232–9. doi:10.1093/jnci/djm086.

- (38) Sugrue MM, Yi J, Purdie D, Dong W, Grothey A, Kozloff M. “Serious arterial thromboembolic events (sATE) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with bevacizumab (BV): Results from the BRiTE registry”. *J Clin Oncol* 2007;25:4136. doi:10.1200/jco.2007.25.18_suppl.4136.
- (39) Khakoo AY, Yeh ETH. “Therapy Insight: Management of cardiovascular disease in patients with cancer and cardiac complications of cancer therapy”. *Nat Clin Pract Oncol* 2008;5:655–67. doi:10.1038/ncponc1225.
- (40) Wang DY, Okoye GD, Neilan TG, Johnson DB, Moslehi JJ. “Cardiovascular Toxicities Associated with Cancer Immunotherapies”. *Curr Cardiol Rep* 2017;19. doi:10.1007/s11886-017-0835-0.
- (41) Abul K. Abbas, Andrew H. H. Lichtman SP. *Inmunología celular y molecular 8a edición*. n.d.
- (42) Man J, Ritchie G, Links M, Lord S, Lee CK. “Treatment-related toxicities of immune checkpoint inhibitors in advanced cancers: A meta-analysis”. *Asia Pac J Clin Oncol* 2018:1–12. doi:10.1111/ajco.12838.
- (43) Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, Atkins MB, Brassil KJ, Caterino JM, et al. “Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline”. *J Clin Oncol* 2018;36:1714–68. doi:10.1200/JCO.2017.77.6385.
- (44) Collins LK, Chapman MS, Carter JB, Samie FH. “Cutaneous adverse effects of the immune checkpoint inhibitors”. *Curr Probl Cancer* 2017;41:125–8. doi:10.1016/j.currproblcancer.2016.12.001.
- (45) Torino F, Corsello SM, Salvatori R. “Endocrinological side-effects of immune checkpoint inhibitors”. *Curr Opin Oncol* 2016;28:278–87. doi:10.1097/CCO.0000000000000293.
- (46) Kumar V, Chaudhary N, Garg M, Floudas CS, Soni P, Chandra AB. “Current diagnosis and management of immune related adverse events (irAEs) induced by immune checkpoint inhibitor therapy”. *Front Pharmacol* 2017;8. doi:10.3389/fphar.2017.00049.

- (47) C. CL, Kristina GA, O. BC, A. SA. “Rheumatic and Musculoskeletal Immune-Related Adverse Events Due to Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review of the Literature”. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2016;69:1751–63. doi:doi:10.1002/acr.23177.
- (48) Badieyan ZS, Hoseini SS. “Adverse Effects Associated with Clinical Applications of CAR Engineered T Cells”. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2018;0:1–6. doi:10.1007/s00005-018-0507-9.
- (49) Agencia española del medicamento y productos sanitarios (AEMPS). *Medicamentos sometidos a seguimiento adicional de su seguridad*. AEMPS 2012:6–8.
- (50) Medicines Agency E. *Guidelines on good pharmacovigilance practices (GVP) Introductory cover note, last updated with considerations P.II on biological medicinal products finalised post-public consultation* 2016;44:1–6.

5. MEDICAMENTOS BIOSIMILARES

Regina Múzquiz

5.1 Introducción

El proceso de descubrimiento, investigación y desarrollo de una molécula con fines terapéuticos es un complejo y costoso camino que no siempre alcanza el objetivo que persigue. Por ello, los productos farmacéuticos están protegidos por patentes, cuya duración es de 20 años. Aproximadamente la mitad de estos años se consumen durante las etapas preclínicas y clínicas del desarrollo del producto, antes de que este llegue al mercado. Los *certificados complementarios de protección* garantizan hasta cinco años más de protección adicional de la patente. También se genera una protección suplementaria denominada *exclusividad de datos* durante un periodo determinado, lo que evita que, durante éste, las autoridades reguladoras de medicamentos puedan aceptar una solicitud de registro de un genérico o de un biosimilar.

Este sistema de protección pretende que las compañías farmacéuticas recuperen la inversión realizada, única forma de hacer atractiva la I+D+i en el sector del medicamento.

De esta forma, cuando el medicamento original pierde la exclusividad, otros laboratorios pueden copiar la molécula. En el caso de las moléculas obtenidas por síntesis química se pueden generar productos idénticos llamados genéricos. En el caso de las moléculas obtenidas a través de un proceso biológico o biotecnológico el producto final no puede ser nunca idéntico al original, por su propia naturaleza y, en consecuencia, no se llama *biogénérico* sino biosimilar (1).

Según la Agencia Europea del Medicamento (EMA por sus siglas en inglés) un biosimilar es *un medicamento biológico que contiene una versión del principio activo de un producto biológico original o producto de referencia, cuya patente ha expirado, frente al cual demuestra biosimilitud*.

Esta demostración se realiza a través de un exhaustivo ejercicio de comparabilidad que concluye que las leves diferencias fisicoquímicas y biológicas entre ambas moléculas no afectan a la calidad, eficacia y seguridad, lo que en última instancia permite su autorización por parte de la Comisión Europea (CE). Es importante reseñar que el término biosimilar tiene un carácter regulatorio y se utiliza en la Unión Europea (UE) para evidenciar la similitud entre el biológico de referencia y el biosimilar.

Como ya se ha apuntado, los medicamentos biosimilares no son genéricos. Es necesario resaltar las diferencias entre ambos tipos de medicamentos, ya que de ellas se derivan las diferencias en los requerimientos regulatorios a los que son sometidos ambos por parte de las agencias reguladoras.

Un genérico (2) es una sustancia de síntesis química que se puede caracterizar de forma completa, por lo que es posible garantizar que el principio activo que contiene un medicamento genérico es idéntico al del medicamento original. Esto no ocurre con los medicamentos biológicos en general, y con los biotecnológicos en particular. Los medicamentos biotecnológicos son sustancias complejas, de gran tamaño y sujetas a una variabilidad fisicoquímica inherente a todo proceso de producción en el que participan seres vivos. Por ello, los medicamentos biosimilares son versiones altamente similares del principio activo del producto de referencia, las cuales pueden presentar pequeñas diferencias con el medicamento original que deben ser caracterizadas. Esta variabilidad fisicoquímica es inherente a los productos de naturaleza biológica, y aparece de hecho en cualquier medicamento biológico, ya sea este original o biosimilar.

En la tabla 1 pueden observarse las diferencias entre ambos tipos de productos en lo que se refiere a los requerimientos de estudios preclínicos y clínicos, número de pacientes implicados en ellos e inversión económica aproximada necesaria para su puesta en el mercado. Asimismo, cabe destacar la diferencia del tiempo estimado que tardan en completar su desarrollo.

		Genérico	Biosimilar
Procedimiento de obtención		Síntesis química	Fuente biológica
Estructura molecular		Identica al producto de referencia	Compleja. Similar al producto de referencia
Desarrollo	Coste	0,6-4 millones de \$	100-300 millones de \$
	Tiempo	2-3 años	6-7 años
Ensayos preclínicos		No requeridos	Extensa caracterización fisicoquímica y biológica
Estudios clínicos		Estudios de bioequivalencia en voluntarios sanos	Comparativa farmacocinética y estudios de Fase III
Pacientes (muestra)		> 12	≈ 500

Así, dado que los medicamentos genéricos son mucho más sencillos de fabricar, se requiere un menor presupuesto y tiempo de desarrollo en comparación con los biosimilares, además de una menor cantidad de ensayos preclínicos y clínicos, y con un número de pacientes considerablemente menor.

5.2 Autorización de medicamentos biosimilares en Europa

En el ámbito de la UE, todos los medicamentos, cualquiera que sea su naturaleza, química o biológica, han de obtener la autorización de la agencia de evaluación correspondiente, ya sea la EMA en Europa o las agencias nacionales de cada país, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, AEMPS, en el caso de España.

Respecto a la vía regulatoria, existen cuatro vías de autorización o de registro: centralizada, descentralizada, de reconocimiento mutuo y nacional. En el caso de los medicamentos biosimilares de origen biotecnológico, estos han de autorizarse siempre por la vía centralizada^a

a.- El procedimiento centralizado es obligatorio en los casos siguientes: i) medicamentos de uso humano que contienen una sustancia activa nueva para el tratamiento de: virus de inmunodeficiencia humana (VIH) o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA); cáncer; diabetes; enfermedades neurodegenerativas; enfermedades autoinmunes y otras disfunciones inmunes; enfermedades víricas; ii) medicamentos derivados de procesos biotecnológicos, como ingeniería genética; iii) medicamentos de terapia avanzada, como terapia génica, terapia celular somática o medicamentos obtenidos mediante ingeniería tisular; iv) medicamentos huérfanos (para enfermedades raras); v) medicamentos veterinarios usados para potenciar el crecimiento o la producción. Directiva 2004/27/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 31 de marzo de 2004 que modifica la Directiva 2001/83/CE por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos de uso humano.

es decir, un único expediente de registro presentado a la EMA que es evaluado por el Comité de Medicamentos de uso Humano (CHMP) del que forman parte los representantes de las agencias nacionales. Cuando el CHMP emite una opinión favorable, la CE será la encargada de autorizar la comercialización del fármaco, quedando este autorizado en todo el Espacio Económico Europeo (EEE). En el caso de otros medicamentos biosimilares (no biotecnológicos) se pueden aprobar por cualquiera de las cuatro vías existentes: centralizada, de reconocimiento mutuo, descentralizada o nacional, según los intereses particulares de cada laboratorio en cada estado miembro. Es importante resaltar que catorce de los quince principios activos para los cuales existen medicamentos biosimilares autorizados en la UE son de origen biotecnológico, a excepción de las heparinas de bajo peso molecular que no requieren de biotecnología para su producción.

Por todo ello, podemos afirmar que los medicamentos biosimilares tienen las mismas garantías de calidad, seguridad y eficacia que los medicamentos de referencia, siendo los expertos evaluadores los mismos que evalúan los fármacos originales con los mismos rigurosos criterios en ambos casos.

El primer medicamento biosimilar que se aprobó en la UE fue la hormona de crecimiento de tecnología recombinante, somatotropina, hace ya más de diez años, en 2006. Actualmente a fecha de julio de 2018, la CE ha autorizado ya un total de 43 fármacos biosimilares correspondientes a 15 principios activos. (Figura I) (3).



Figura 1. Biosimilares a Europa y España. Fuente: BioSim

Es importante resaltar que así como los medicamentos biológicos originales deben aportar datos suficientes que justifiquen un balance riesgo-beneficio favorable en cada una de las indicaciones clínicas para las que pretenden obtener la aprobación, para los medicamentos biosimilares, que no pretenden ser más que una versión extraordinariamente parecida a su producto de referencia, ya se dispone de esa información que en su día fue necesaria para autorizar cada una de las indicaciones del producto de referencia. Por lo tanto, de lo que se trata ahora es de seguir demostrando que el biosimilar y el producto de referencia se comportan de manera tan parecida cuando se administran a seres humanos, que los datos que se obtuvieron para el medicamento de referencia son aplicables también al medicamento biosimilar.

Por ello para la evaluación y autorización de medicamentos biosimilares por las Agencias Reguladoras es necesario, como ya se ha comentado anteriormente, un exhaustivo ejercicio de comparabilidad que se realiza en diferentes etapas: (1)

- **Comparabilidad físico-química:** En ella se realizan ensayos físico-

químicos mediante técnicas analíticas para demostrar la comparabilidad estructural entre ambos.

- **Comparabilidad de la actividad biológica:** Se realizan ensayos pre-clínicos, que incluyen estudios *in vitro*, *ex vivo* y, cuando se estimen necesarios, *in vivo*^b, para comparar la actividad biológica del medicamento de referencia y el biosimilar en una batería de bioensayos que permiten caracterizar las funciones biológicas más relevantes para su acción terapéutica y su toxicidad (p. ej. unión a receptores o a sus diánaas biológicas, transducción de señales biológicas, viabilidad celular).
- **Comparabilidad clínica:** Se valora la comparabilidad en el comportamiento farmacocinético y farmacodinámico del medicamento de referencia y el medicamento biosimilar en seres humanos. La comparabilidad clínica ha de comenzar, como en el caso de los genéricos, por la comparabilidad farmacocinética, es decir, por los estudios de bioequivalencia. En lo sustancial, los estudios de bioequivalencia con medicamentos biosimilares no difieren de los que estamos acostumbrados a ver para las moléculas de síntesis química. Su objetivo es demostrar que la biodisponibilidad del medicamento biosimilar es igual que la del medicamento de referencia.

Por lo general, se ha de realizar algún estudio comparativo de eficacia y seguridad en pacientes que confirme que el comportamiento clínico de ambos medicamentos es comparable, es decir se realizan ensayos clínicos. Para ello se elige el diseño de ensayo para la indicación más sensible con el fin de tener la máxima capacidad de encontrar diferencias si las hubiera, diseño que no es necesariamente el mismo que utilizó el original para demostrar la eficacia clínica.

La idea que subyace a este desarrollo en etapas es que las pequeñas diferencias que puedan encontrarse entre el medicamento de referencia y el biosimilar no tendrán un impacto significativo en el resultado terapéutico final en cada una de las indicaciones para las que ha sido aprobado. Cabe destacar, que el ejercicio de comparabilidad se realiza

b.- *in vitro*: se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

in vivo: se refiere al procedimiento diagnóstico o experimento que se realiza en el organismo mientras vive.

ex vivo: se refiere al procedimiento diagnóstico o experimento que se realiza en tejidos o células vivas, que han sido extraídas del organismo, pero que se mantienen vivas en un medio controlado..

tanto en el desarrollo de medicamentos biosimilares como para medicamentos biológicos originales cuando estos sufren modificaciones en sus procesos de producción.

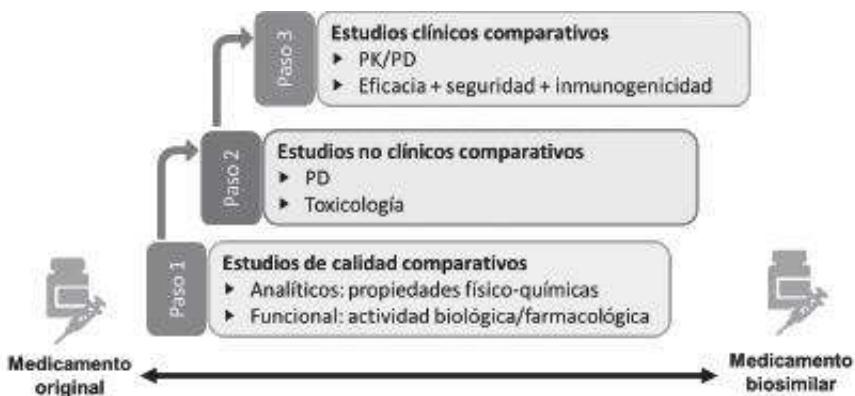


Figura 2. Etapas ejercicio de comparabilidad entre el medicamento de referencia y el biosimilar. Fuente: BioSim.

5.3 Farmacovigilancia

En 2010 y 2012, la UE adoptó nuevas directivas y regulaciones por las que se modificaban los requisitos en materia de farmacovigilancia, Directiva 2010/84/UE y Directiva 2012/26/UE ya incorporadas en la legislación española por el Real Decreto 577/2013, de 26 de julio , por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano. Con esta nueva normativa, surgen nuevos requisitos como: seguimiento adicional, triángulo negro y Plan de Gestión de Riesgos.

El concepto de **seguimiento adicional** se aplica a “[...] todos los medicamentos que contengan nuevos principios activos, y medicamentos biológicos, incluidos biosimilares.”



“Este medicamento está sujeto a seguimiento adicional”

Según lo anterior, todo nuevo medicamento autorizado después del 1 de enero de 2011 y sujeto a seguimiento adicional incluirá el símbolo negro en su prospecto y en el resumen de las características del producto

cuando se comercialice en la UE.

La evaluación post-comercialización de los biosimilares por tanto es idéntica a la de cualquier otro medicamento biológico, y tiene como objetivo poder detectar cambios en el balance riesgo/beneficio y controlar la seguridad y la inmunogenicidad de los medicamentos.

Otro de los nuevos requisitos que derivaron de esta actualización de la normativa europea en materia de farmacovigilancia fue la inclusión de un **Plan de Gestión de Riesgos** (PGR) “(...) para cada medicamento para el que se solicite autorización de comercialización a partir de la entrada en vigor del presente real decreto.”, la fecha de entrada en vigor de dicho decreto fue el 27 de julio de 2013.

El PGR tiene como objetivo determinar el perfil de seguridad del medicamento identificando los riesgos junto a la propuesta de una serie de medidas para que sea posible minimizarlos. Este requisito aplicaría, de nuevo, a cualquier medicamento aprobado después de dicha fecha.

5.4. Uso Racional de Medicamentos biosimilares

En un contexto como el actual, el uso racional de los medicamentos es un imperativo ético para los médicos, un imperativo que forma parte de su compromiso social; un imperativo que no tiene carácter absoluto y que debe tener en cuenta las circunstancias concretas de cada paciente, de forma que el objetivo general (racionalización de costes) no menoscabe la calidad de la atención médica.

a. Prescripción

Los medicamentos biosimilares deben ser prescritos por marca comercial, obligación que deriva de la directiva comunitaria Directiva de Ejecución 2012/52/UE de la Comisión de 20 de diciembre de 2012 , por la que se establecen medidas para facilitar el reconocimiento de las recetas médicas expedidas en otro Estado miembro, cuyo preámbulo reza textualmente:

“Por eso debe indicarse la denominación común de los medicamentos, a fin de facilitar la identificación correcta de los que se comercializan con marcas distintas en diferentes Estados miembros y de los que no se comercializan en todos ellos. Debe utilizarse la denominación común internacional recomendada por la Organización Mundial de la Salud o, en su defecto, la denominación común usual. La marca comercial de un medicamento solo debe servir para la identificación inequívoca de los medicamentos biológicos, tal como se definen en el anexo I, punto 3.2.1.1., letra b), de la Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 noviembre 2001, por la que se establece un código”

b. Dispensación

En España actualmente, la mayoría de los medicamentos biosimilares se dispensan a través de la farmacia hospitalaria, bien para pacientes ingresados, para pacientes de hospital de día o para pacientes ambulatorios. Actualmente sólo se dispensan en la farmacia comunitaria los medicamentos cuyo principio activo es la insulina glargina, la hormona folículoestimulante y próximamente la enoxaparina.

c. Intercambiabilidad

Para los profesionales de la salud es importante conocer la terminología actual de la Comisión Europea sobre intercambiabilidad, *switching* y sustitución en el contexto de los medicamentos biosimilares (8).

Intercambiabilidad: se refiere a la posibilidad de intercambiar un medicamento por otro que se espera que obtenga el mismo efecto clínico. Este intercambio puede realizarse entre un producto de referencia y un biosimilar (o viceversa) o entre dos biosimilares. En función de en quién radique la decisión del cambio, podemos hablar de:

- **Cambio en la prescripción (Cambio o Switching):** cuando el médico prescriptor decide cambiar un medicamento por otro con la misma intención clínica.
- **Cambio en la dispensación (Sustitución automática):** práctica de dispensar un medicamento en lugar de otro equivalente e intercambiable a nivel de farmacia sin consultar al responsable de su prescripción.

Figura 3. Competencias de la EMA y los Estados Miembros sobre intercambiabilidad. Fuente: BioSim



Cuando la EMA lleva a cabo la evaluación científica de un medicamento biosimilar no emite recomendaciones sobre si el biosimilar es intercambiable por su producto de referencia, y por ello, la CE no establece si el producto de referencia puede ser cambiado (práctica médica) o sustituido (práctica farmacéutica) por el biosimilar, sino que tales decisiones se toman a nivel nacional por parte de cada Estado miembro.

A nivel de la UE no existe una posición común entre los Estados miembros sobre la intercambiabilidad entre medicamento original y biosimilar. En cambio, algunas autoridades regulatorias nacionales como son las agencias de evaluación de medicamentos de Holanda, Finlandia, Escocia e Irlanda o el Instituto Paul Ehrlich en Alemania, ya han tomado posiciones nacionales para respaldar la intercambiabilidad de biosimilares bajo la supervisión del médico prescriptor (9).

Con respecto a España la intercambiabilidad de biosimilares no está regulada y por ello, esta práctica se ha convertido en un tema de debate.

Los organismos reguladores, al aprobar un biosimilar, aseguran que este y el medicamento de referencia demuestran biosimilitud en su comportamiento farmacocinético y presentan un perfil comparable de eficacia y seguridad. Es decir, las posibles diferencias que puedan existir entre ellos no son significativas en términos de seguridad, eficacia o calidad. En el proceso de evaluación se exige que el rango de diferencia que se espera de un biosimilar respecto al original sea el mismo que se esperaría entre los diferentes lotes del producto de referencia.

El *switching* es una práctica clínica que se realiza de forma frecuente por los médicos con todo tipo de fármacos y se basa en la experiencia de uso

y en el criterio del facultativo.

En este sentido, las sociedades científicas han ido emitiendo sus posicionamientos y actualizaciones de estos, en los que en general se insta a que el cambio de un medicamento por otro no sea en ningún caso automático, respetando así el principio de libre prescripción del médico y el de consentimiento informado del paciente.

En España, de acuerdo con el artículo 89 del Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios(10), los medicamentos biológicos no pueden ser sustituidos por el farmacéutico en el acto de la dispensación. Este artículo está incluido en el capítulo IV del uso racional de medicamentos en la oficina de farmacia, lo que hace inequívoca la prohibición en este ámbito.

5.5. Eficiencia

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la conferencia de Nairobi de 1985, el Uso Racional de Medicamentos consiste en que:

“Los pacientes reciban la medicación adecuada a sus necesidades clínicas, en las dosis correspondientes a sus requisitos individuales, durante un período de tiempo adecuado y al menor coste posible para ellos y para la comunidad”.

En este sentido, los medicamentos biosimilares vienen a contribuir a la mejora de la eficiencia en la utilización de recursos del Sistema Nacional de Salud (SNS).



Figura 4. Eficiencia de la entrada al mercado de biosimilares. Fuente: BioSim

Como se puede observar en la Figura 4, la entrada de los biosimilares en el mercado tiene como consecuencia una reducción del precio de dicho principio activo mediante dos vías. Una, porque al biosimilar se le otorga un menor precio inicial de comercialización y otra, porque el Sistema de Precios de Referencia obliga al original a bajar su precio hasta igualar el precio de referencia del conjunto para poder seguir financiado con cargo a fondos públicos. Esto permite liberar parte del presupuesto, que podrá ser invertido bien en tratar a un mayor número de pacientes, bien para facilitar la entrada de nuevos fármacos innovadores de alto coste o bien para cubrir otras necesidades sanitarias. Además, este incremento de la competencia resulta ser un motor en el fomento de la I+D+i.

En definitiva, los medicamentos biosimilares, con las mismas garantías de calidad, seguridad y eficacia, generan competencia y por tanto, disminuyen los costes de los tratamientos biológicos. Esto redunda en una mayor eficiencia terapéutica y, en consecuencia, contribuye a la sostenibilidad del Sistema Nacional de Salud.

Bibliografía

- (1) Comissió Europea. “Lo que debes saber sobre medicamentos biosimilares”. *Documento informativo de Consenso*. 2013
- (2) *DIRECTIVA 2001/83/CE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 6 de novembre de 2001 por la qual s'estableix un codi comunitari sobre medicaments d'ús humà.*
https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2001_83_consol_2012/dir_2001_83_cons_2012_es.pdf
(visitado el 23/07/2018)
- (3) http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages%2Fmedicines%2Flanding%2Fepar_search.jsp&mid=WC0b01ac058001d124&searchTab=searchByAuthType&alreadyLoaded=true&isNewQuery=true&status=Authorised&keyword=Enter+keywords&searchType=name&taxonomyPath=&treeNumber=&searchGenericType=biosimilars&genericsKeywordSearch=Submit
- (4) *DIRECTIVA 2010/84/UE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 15 de desembre del 2010 que modifica, pel que fa a la farmacovigiància, la Directiva 2001/83/CE por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano.* <https://www.boe.es/doue/2010/348/L00074-00099.pdf>
- (5) *DIRECTIVA 2012/26/UE DEL PARLAMENT EUROPEU I DEL CONSELL, de 25 d'octubre de 2012, per la qual es modifica la Directiva 2001/83/CE pel que fa a la farmacovigilància.* https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-1/dir_2012_26/dir_2012_26_es.pdf
- (6) *Reial Decret 577/2013, de 26 de julio, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano.* <https://www.boe.es/boe/dias/2013/07/27/pdfs/BOE-A-2013-8191.pdf>
- (7) *DIRECTIVA D'EXECUCIÓ 2012/52/UE DE LA COMISSIÓ, de 20 de desembre de 2012, per la qual s'estableixen mesures per facilitar el reconeixement de les receptes mèdiques expedides en un altre estat membre.*

https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/cross_border_care/docs/impl_directive_prescriptions_2012_es.pdf

- (8) *Biosimilars in the EU: Information guide for healthcare professionals* (http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Leaflet/2017/05/WC500226648.pdf)
- (9) Kurki P, et al. “Interchangeability of Biosimilars: A European Perspective”. *BioDrugs*. 2017; Apr;31(2):83-91.
- (10) *Reial Decret Legislatiu 1/2015, de 24 de juliol, pel qual s'aprova el text refós de la Llei de garanties iús racional dels medicaments i productes sanitaris.* <https://www.boe.es/boe/dias/2015/07/25/pdfs/BOE-A-2015-8343.pdf>

6. EL DESARROLLO DE LOS MEDICAMENTOS BIOSIMILARES EN ESPAÑA

Carlos Lens

1. Introducción: La protección de la propiedad intelectual e industrial en el siglo XXI y sus efectos sobre la farmacoeconomía

Los acuerdos ADPIC (Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio) entraron en vigor en 1998 y con ellos se generalizó la protección a la propiedad intelectual e industrial. Apenas un puñado de países se abstuvieron de suscribirlos y bien puede afirmarse que han quedado excluidos de una parte considerable de los procesos de decisión supranacionales que condicionan el progreso de la humanidad. No obstante, los efectos para los Estados no signatarios de los ADPIC no son tan deletéreos como el *default* financiero pero son buena muestra de la esclavitud dimanante de la globalización.

Entre los ADPIC figuran los acuerdos sobre protección de la propiedad industrial, es decir, el esquema de protección mediante patentes. No significa ésto que no existiera protección de invenciones antes de la entrada en vigor de los ADPIC -todo lo contrario- sino que la suscripción de los ADPIC en la Ronda Doha de la Organización Mundial del Comercio propició la generalización de la protección de la propiedad intelectual e industrial y sólo un puñado de países pretenden seguir actuando fuera de los mismos.

Los expertos en materia farmacéutica pronosticaron un incremento en los precios de los nuevos medicamentos como consecuencia de la implementación de los ADPIC. No erraron. La innovación farmacológica en el siglo XXI se comercializa a precios sin precedentes. Si se comparan los precios que las empresas titulares de los nuevos medicamentos con los del último cuarto del siglo XX se aprecia que se asiste a un cambio de paradigma.

Las decisiones sobre precios de nuevos medicamentos siguieron las lí-

neas que la Economía Clásica marcaba en tanto las innovaciones farmacológicas se sucedieron en forma de pequeños pasos, es decir, lo nuevo repetía al menos lo ventajoso de lo preexistente y en ocasiones lo mejoraba. Esta tendencia se quebró cuando la investigación biomédica pluridisciplinar cambió los enfoques y la investigación aplicada empezó a nutrirse de los avances en aspectos biológicos fundamentales para la Fisiopatología. Aparecieron innovaciones disruptivas y en pocas décadas se modificó la eficacia de las intervenciones farmacoterapéuticas. Los nuevos fármacos disfrutaron de condiciones de precio enormemente atractivas, que remuneraron altamente las asignaciones de recursos a la I+D y el crecimiento de las estructuras empresariales necesarias para la investigación, fabricación y comercialización de las innovaciones. Los mercados de valores reconocieron los éxitos económicos del sector farmacéutico y la capitalización bursátil de muchas empresas así lo atestigua.

Sin embargo, la protección que los ADPIC otorgan es temporal y las innovaciones farmacológicas están destinadas a competir antes o después. Durante el período de privilegio que significa la vida de la patente existe la posibilidad de que surja un competidor igualmente patentado pero cuyas indicaciones terapéuticas coincidan con las de un medicamento ya comercializado. Al expirar el período de protección de la patente, que se mantiene por veinte años salvo extensión por los mecanismos complementarios existentes en la Unión Europea, cualquier empresa puede entrar en el mercado con competidores iguales o similares en composición, dosis y ficha técnica. Por otra parte, los principios de la Bioética y las necesidades financieras de los sistemas sanitarios permiten que los competidores reciban las autorizaciones de comercialización apoyándose en los datos del medicamento original -al menos en buena medida- y, por tanto, los costes de desarrollo de estos competidores suelen ser menores.

Medicamentos biológicos y biosimilares

El número de fármacos biológicos es netamente inferior al de los de estructura química. Hace medio siglo eran muy pocos -factores de coagulación y hormonas extraídas de órganos de animales o de cadáver humano- pero los avances en Genética, Bioquímica y Microbiología

cambiaron esta situación. Primero fue la Bioingeniería la que hizo posible la expresión de genes humanos en células microbianas para después pasar a cultivos de tejidos en cuyos genomas se habían insertado los genes responsables de la producción de proteínas humanas. A continuación, ya a finales del siglo XX, surgieron los anticuerpos monoclonales producidos por hibridomas humanizados que están dirigidos contra dianas fisiopatológicas específicamente vinculadas a procesos bioquímicos íntimamente relacionados con la etiopatogenia de enfermedades hasta ahora carentes de abordaje terapéutico. El resultado es que el arsenal farmacológico compuesto por medicamentos biológicos se ha multiplicado en gran medida en las últimas cuatro décadas. Estos fármacos son clave en el tratamiento de enfermedades tan prevalentes como la diabetes, que afecta a un 5% de la población en los países desarrollados, o están incluidos en los protocolos terapéuticos de las enfermedades neoplásicas o los procesos inmunopatológicos, a lo que cabe añadir un número creciente de enfermedades raras.

Al igual que los fármacos de estructura química, los medicamentos biológicos son susceptibles de ser patentados y disfrutar de un período de privilegio sin competencia por medicamentos formulados con principio activo similar. Dado que la inmensa mayoría de los medicamentos biológicos poseen estructura proteica, y dado que dos proteínas que tienen en común la cadena de aminoácidos pueden diferir -al menos teóricamente- en la estructura cuaternaria, se acepta referirse a dos medicamentos biológicos que comparten el principio activo no como iguales sino como similares. De aquí la acepción *medicamento biosimilar*, que se explica por sí misma y diferencia a estos fármacos de los de estructura química, para los que se reserva la calificación de *medicamentos genéricos*.

A diferencia de los medicamentos genéricos, los biosimilares están sujetos a normas más estrictas en lo referente a sus autorizaciones de comercialización. En la inmensa mayoría de los casos los medicamentos genéricos no necesitan incluir en sus expedientes de autorización un paquete completo de ensayos clínicos, sino que basta demostrar la bioequivalencia mediante un ensayo de fase I. Los expedientes de fármacos biosimilares, por el contrario, han de incluir ensayos de bioequivalencia clínica como resultado de la falta de igualdad estructural que ya se ha explicado y que puede determinar, entre otros efectos, diferencias en la inmunogenicidad.

Los reguladores han desarrollado un marco normativo muy estricto que va desde la obligación de demostrar la equivalencia clínica en el procedimiento de autorización de comercialización hasta la prohibición de sustituir un medicamento biológico por otro en la práctica médica. Es decir, en el acto de dispensación de la receta u orden de dispensación el farmacéutico debe respetar la instrucción del prescriptor y abstenerse de dispensar un medicamento diferente del prescrito, aunque sea igual en composición, dosis y forma de dosificación.

Práctica médica y medicamentos biológicos

El elevado precio de los nuevos fármacos favorece, como ya se ha indicado, la competencia tanto mientras dura la protección por patente como a la expiración de ésta. En el primer caso se produce el desarrollo de equivalentes terapéuticos, a menudo pertenecientes a la misma familia químico-terapéutica -los denominados *me-too products*- y los efectos farmacoeconómicos son variables dependiendo de las diferencias en eficacia y seguridad. Incluso la empresa titular del principal fármaco de una nueva categoría terapéutica puede acudir a la estrategia *evergreening*, consistente en escalaronar el desarrollo de nuevas moléculas de modo que puedan entrar en el mercado aproximadamente en el momento en que el primero de la serie pierda la protección por patente, de modo que la empresa titular pueda mantener la posición de franquicia con un fármaco de generación posterior pero protegido por patente durante varios años después del vencimiento de la patente del primero.

Sin embargo, lo más frecuente es que venza la patente y se produzca la entrada en mercado de competidores que comparten el principio activo. En el caso de fármacos de estructura química los competidores son medicamentos genéricos. Si se trata de fármacos biológicos la llegada de competidores biosimilares al mercado suele ser más lenta debido al elevado coste de desarrollo de éstos. Aun así, las patentes expiran y se produce la entrada de competidores. El efecto inmediato es un descenso de los precios, más rápido en el caso de fármacos con competencia genérica pero que también afecta a los medicamentos biológicos, si bien en diferente medida o, para mayor precisión, sometiéndose a las fuerzas del mercado en caso de fármacos que se adquieren preferentemente en el ámbito hospitalario.

El sistema de precios de referencia de medicamentos goza de larga tradición en España y afecta profundamente a la prescripción y dispensación de medicamentos incluidos en la prestación farmacéutica del Sistema Nacional de Salud (SNS). Las tensiones presupuestarias que afectan a los gestores sanitarios -crecientes durante la crisis económica de 2008- ha hecho que esta herramienta se haya fortalecido hasta extremos difícilmente previsibles cuando empezaron a aplicarse métodos de evaluación farmacoeconómica y que en la segunda década del siglo XXI haya pasado a ejercer una enorme influencia sobre la práctica médica.

El legislador ha instituido la prescripción por principio activo ya a finales de la primera década del siglo XXI. El vigente Texto Refundido de la Ley de garantías de los medicamentos y productos sanitarios, aprobada mediante el Real Decreto Legislativo 1/2015, así lo recoge en su artículo 87. A resultas de ello, es preceptivo que el médico del SNS prescriba por principio activo como norma general y únicamente pueda utilizar las denominaciones comerciales cuando se trate de medicamentos no intercambiables, de modo que el farmacéutico dispensador se abstenga de sustituirlos. Esta excepción del mencionado artículo de la Ley afecta de lleno a los medicamentos biológicos y la presencia en el mercado de competidores biosimilares no se asocia a la rápida sustitución que ha venido caracterizando a los medicamentos de estructura química.

El médico prescriptor que oficia en el SNS debe adecuar su ejecutoria de modo diferente según desarrolle su práctica en el nivel ambulatorio o en el hospital. No está obligado a prescribir medicamentos biológicos por principio activo y puede seguir recetando el fármaco original, debiendo el farmacéutico respetar la orden de prescripción aunque existan ya en el mercado alternativas biosimilares menos costosas. Cabe aclarar que este fenómeno es transitorio y que la siguiente Orden de actualización del sistema de precios de referencia de medicamentos eliminará las diferencias en precio entre medicamento biológico original y sus biosimilares y en ese momento la decisión de recetar uno u otro será neutra a efectos económicos.

En el nivel hospitalario la situación es diferente. La inmensa mayoría de los medicamentos de alto precio se concentra en estas instituciones y los responsables económicos del SNS ejercen influencia creciente sobre las decisiones farmacoterapéuticas. Las adquisiciones de medicamentos en

los hospitales públicos se efectúan a precios inferiores a los PVL oficiales pero aun así los gerentes no vacilan en imponer la adquisición de las alternativas más coste-efectivas, en ocasiones en contra del criterio médico. La consecuencia es que la competencia por precio opera desde el mismo momento en que existen opciones biosimilares disponibles para el SNS. No se aguarda a que la siguiente actualización de los precios de referencia iguale los PVL entre original y biosimilar.

En la práctica privada la presión para prescribir las opciones menos costosas es notablemente inferior o está ausente. No es infrecuente hallar situaciones en que el medicamento de referencia, en su día original, opta por excluirse de la financiación del SNS y se contenta con mantener posición de privilegio en el mercado privado, en el que el precio puede pesar menos que la recomendación facultativa.

Así pues, se asiste a dos sectores bien diferenciados en práctica médica en lo que a prescripción y dispensación de medicamentos biosimilares se refiere. En el SNS la presión para utilizar biosimilares es alta y no se aprecian indicios de cambio, sino todo lo contrario. En la práctica privada se respeta el criterio médico en mayor medida. No obstante, hay que recordar que el SNS representa más del 90% del consumo farmacéutico en el segmento hospitalario y que la diferencia es aún mayor si se analiza el consumo de medicamentos de elevado precio.

El debate sobre intercambiabilidad de medicamentos biológicos

En otros capítulos de este volumen se trata este asunto en profundidad y no cabe sino hacer una breve referencia al mismo al tratar los aspectos económicos. Resúmese en que existen factores tanto a favor como en contra.

La noción de intercambiabilidad de fármacos nace en los años 60 del pasado siglo, en tiempos álgidos para la Farmacología. Fue en dicha década cuando se conocen las dimensiones del desastre de la talidomida, que dejó miles de afectados de focomelia. Este efecto adverso de origen teratogénico se sumó a las intoxicaciones -muchas de ellas con fatal resultado- por etilenglicol usado como excipiente en formas líquidas de sulfamidas y propició la intervención decidida de los legisladores para

reordenar la actuación de los entes reguladores de la comercialización de medicamentos. La Directiva 65/65 de la Comunidad Económica Europea se promulgó por entonces, cuando la actual Unión Europea estaba compuesta por tan sólo 7 Estados miembros en lo que se denominaba Mercado Común de forma simplificada. Desde entonces se asiste a un prolífico desarrollo normativo que alcanza a todas las facetas de la Farmacia y de la Farmacología. Es evidente que la actividad de sustitución de medicamentos, tarea que los farmacéuticos venían desarrollando desde que los medicamentos de fabricación industrial aparecieron, no podía quedar apartada del intenso proceso regulador y el resultado es el desarrollo e implementación de un conjunto de reglas para determinar en qué casos procede sustituir medicamentos.

Los medicamentos biológicos siguen considerándose no intercambiables. De ahí que los reguladores mantengan una posición muy estricta al respecto.

Sin embargo, la Ciencia avanza y cuestiona los paradigmas del pasado. Un ensayo clínico realizado en 25 hospitales de Noruega por Jorgensen et al., en el que se estudió la bioequivalencia clínica del infliximab, administrando medicamento biosimilar y de referencia, en 2016, concluyó que no hubo diferencias significativas entre los medicamentos testados, ya fuera en niveles hemáticos o en efectos terapéuticos tampoco se registraron diferencias significativas en efectos adversos ni en la inmunogenicidad. El diseño en doble ciego, el elevado número de pacientes evaluables y la solidez de los resultados buscados -empeoramiento como *endpoint* primario- confieren gran validez a este ensayo multicéntrico que se conoce como *Nordic Switch* en la literatura biomédica.

El estudio de Jorgensen, financiado con fondos del Gobierno noruego, pone en cuestión la validez de las restricciones vigentes en los ordenamientos sobre la no intercambiabilidad de fármacos biológicos. Es posible que se puedan suavizar las barreras a la sustitución de medicamentos biológicos pero aún queda camino por recorrer. El trabajo del equipo noruego se ha efectuado con anticuerpos monoclonales procedentes de diferentes hibridomas, lo que confiere a dichas sustancias una homogeneidad notable, que no puede ser extendida sin más a otros fármacos biológicos, y así lo reconocen los autores en sus conclusiones. Las insulinas difieren en gran medida entre sí y el cambio de tratamiento

de un tipo a otro exige guardar importantes precauciones, y otro tanto cabe afirmar de los factores de coagulación. Si bien existe experiencia extensísima sobre cambios en los tratamientos con inmunoglobulinas de diferente origen, la misma no puede ser transferida sin más a los anticuerpos monoclonales, por más que éstos sean también IgG.

Es posible que los reguladores lleguen a aceptar la intercambiabilidad de medicamentos biológicos en ciertas condiciones pero para ello es preciso sumar más ensayos clínicos como el *Nordic Switch*.

En tanto no se disponga de tal información, los medicamentos biológicos seguirán siendo considerados no intercambiables y esta característica se mantendrá como principal barrera para la entrada de estos fármacos en los mercados. Como contrapunto a la barrera reguladora se alza el nivel responsable de la gestión asistencial, para el que las economías que aportan los medicamentos biosimilares son imprescindibles. Debe tenerse en cuenta que la financiación de los nuevos fármacos en los Sistemas Nacionales de Salud exige la pronta incorporación de las alternativas menos costosas a la cartera asistencial. Los fármacos biosimilares constituyen una fracción básica de dicha cartera y son motores irreemplazables en el mantenimiento del equilibrio presupuestario.

Medicamentos biosimilares disponibles en el segundo semestre de 2018

El año 2018 se inició con 9 principios activos de estructura biológica comercializados en España para los que existía competencia de medicamentos biosimilares:

Somatotropina
Epoetina
Filgrastim
Folitropina alfa
Infliximab
Etanercept
Condroitinsulfat
Rituximab
Insulina glargina

Durante el segundo semestre de 2018 se han añadido otros tres principios activos a dicha lista:

Trastuzumab
Enoxaparina
Adalimumab

En fechas próximas se producirán los vencimientos de las patentes de fármacos tan prominentes como bevacizumab, ranimizumab y otros. Dado que se siguen autorizando nuevos fármacos de estructura biológica, el proceso de entrada de nuevos biosimilares en los mercados se mantendrá durante décadas y los medicamentos biológicos de referencia coexistirán con competidores biosimilares.

Desde la entrada del primer biosimilar en el mercado se produce competencia por precio. El regulador español -al igual que otras autoridades de Estados miembros de la UE- exige descensos en los PVL del primer biosimilar. Durante los últimos cinco años los descensos en el PVL autorizado han oscilado entre 20% y 30% pero la tendencia que se aprecia en las últimas decisiones de la Comisión Interministerial de Precios de los Medicamentos -órgano colegiado responsable de las decisiones de precio y condiciones de financiación de los medicamentos en el SNS- se orientan hacia el -40% que se aplica al primer competidor genérico para el caso de los fármacos de estructura química.

Penetración de los medicamentos biosimilares en el mercado español

La singularidades de los medicamentos biosimilares y la coyuntura económica a finales de la segunda década del siglo XXI conforman un escenario de mercado que presenta diferencias notables con el segmento de los fármacos de estructura química. Hace casi treinta años los primeros medicamentos genéricos se enfrentaron a un mercado hostil en el que la presencia de opciones terapéuticas más económicas no fue bienvenida y hubo de abatir numerosos prejuicios antes de que prevaleciese la lógica del mercado: expirado el período de protección por patente y comercializadas las alternativas genéricas, los precios deben descender por efecto de la competencia.

Como ya se ha indicado, la situación de los medicamentos biosimilares es un tanto distinta. En tanto que biológicos, no son intercambiables y, adicionalmente, la prescripción por marca es práctica general.

Como consecuencia, la disponibilidad de competidores biosimilares en el mercado es condición necesaria pero no suficiente para que se instaure la competencia por precio. La presión de las empresas titulares de los medicamentos biológicos de referencia ha sido y es muy intensa y ha sido necesario que los gestores del SNS pusieran en práctica una serie de acciones tendentes a evitar el bloqueo a la entrada de la competencia por biosimilares. El resultado es, como se presenta a continuación, una penetración lenta de los medicamentos biosimilares en el mercado español pero con indicios de aceleración en el ritmo y crecientes participaciones porcentuales en cada segmento del mercado de medicamentos biológicos.

Sin embargo, la comparación de consumo de medicamentos biosimilares únicamente tiene sentido si se efectúa frente a los demás medicamentos biológicos. En este sentido, los datos de consumo farmacéutico del Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social informan del consumo real de medicamentos en receta oficial del SNS. No se trata de paneles de mercado sino de cifras exactas de consumo de fármacos financiados con fondos públicos. El consumo de medicamentos en hospitales ha permanecido opaco durante muchas décadas y sólo recientemente se ha abordado su análisis de forma decidida,, de modo que desde 2016 se dispone de datos precisos sobre la estructura de este segmento. Según esta fuente, el 1,6% de los envases facturados en el primer trimestre de 2018 correspondieron a medicamentos biosimilares y su cifra de gasto expresada en PVL alcanzó el 3,2%.

Los resultados de las comparaciones varían según se utilicen diferentes parámetros. El Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social utiliza los siguientes en sus informes:

Número de envases:

Valor a PVL

Dosis diarias definidas (DDD)

Durante el primer trimestre de 2018 un total de 902.000 envases de medicamentos biosimilares fueron consumidos en el seno del SNS, lo que significa el 14,3% del total consumido en medicamentos biológicos. En términos de DDD significaron, en el período considerado, el 10,5% de las DDD y el 23,4% del valor a PVL. Estas cifras ponen de manifiesto la disparidad existente entre los diferentes parámetros a la hora de ofrecer una imagen representativa del peso de los medicamentos biosimilares en la estructura del consumo de los medicamentos biológicos.

A la hora de enjuiciar el valor de los tres parámetros enunciados, el menos favorecido es la DDD. Existen razones para dejar en segundo plano la DDD por tratarse de una variable generada de modo convencional por la OMS de modo que se facilite la elaboración de estudios de consumo de medicamentos entre diferentes poblaciones o subpoblaciones, pero no para agregar datos de consumo pertenecientes a un conjunto de medicamentos.

El valor del consumo expresado a PVL tampoco es una variable suficientemente explicativa del consumo farmacéutico de medicamentos biológicos. Su carácter de máximo, recogido en el artículo 94 del Texto Refundido de la Ley, produce diferencias entre las cifras reales y las obtenidas multiplicando el número de envases por el PVL intervenido.

El número de envases es, tanto por exclusión como por sentido y significado, el parámetro que mejor informa sobre la penetración de los medicamentos biosimilares en el consumo de medicamentos biológicos. Las razones son múltiples pero se pueden resumir en que un envase de medicamento biológico representa una unidad precisa de tratamiento, sea de origen innovador o biosimilar.

No obstante, en las siguientes comparaciones se atenderá en ciertos casos a DDD y a PVL con objeto de aportar un cuadro relativamente homogéneo. Debe tenerse en cuenta que no siempre existe DDD para todos los fármacos -caso de rituximab en 2018- y que el valor de la DDD disminuye notablemente si existe variabilidad en las pautas de dosificación.

Para el caso de medicamentos biológicos mayoritariamente utilizados en el entorno hospitalario el valor de consumo a PVL aporta valor orien-

tador dado que se trata de una cuantía intervenida en muchos países. Sin embargo, en el caso español el PVL tiene carácter de máximo (artículo 94 del Texto Refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios) y la realidad es que este precepto se utiliza a fondo por los gestores de los hospitales del SNS en busca de las necesarias economías que hagan posible la sostenibilidad de la asistencia sanitaria.

Los patrones de penetración de medicamentos biosimilares difieren según se trate de medicamentos dispensables mediante receta o dispensables por los servicios farmacéuticos hospitalarios. También, como es lógico, los biosimilares tienen mayor probabilidad de alcanzar cotas de penetración más elevadas si llevan más años comercializados. Las cifras porcentuales disponibles en el contexto del SNS así lo indican.

Los primeros biosimilares muestran grados de penetración diverso. Filgrastim es el líder en penetración, situándose en el 90% en número de envases, seguido por epoetina, que supera el 60%. La evolución en términos porcentuales es claramente al alza. Por el contrario, el biosimilar formulado con HGH se sitúa en cotas muy modestas, sin superar el 20% y con tendencia decreciente en 2017. Obsérvese, empero, que sólo existe un medicamento biosimilar con este principio activo en España y que compite con los biotecnológicos que en su día representaron una notable innovación.

Los Ejemplos anteriores son importantes pero sus situaciones son demasiado específicas para extraer conclusiones. Sus características definitorias son muy diferentes de los fármacos biológicos de mayor peso en la estructura de gasto farmacéutico del SNS: antineoplásicos e inmunológicos. Estas dos categorías, ambas pertenecientes al grupo L de la clasificación ATC suponen la principal partida de gasto en medicamentos biológicos. Conviene, por tanto, analizar la dinámica de su entrada en el mercado. El problema es que los nuevos medicamentos biosimilares llevan poco tiempo de comercialización. Aun así, los biosimilares de infliximab alcanzan el 41,4% en el último período y etanercept roza el 9%, con significativos incrementos durante el último año, refiriéndose dichas cifras porcentuales a envases. Los primeros datos de la entrada de biosimilares de rituximab apuntan al mismo patrón.

Los medicamentos biológicos de uso ambulatorio muestran patrones de penetración diferentes según se observen los datos procedentes de receta o del hospital. Así, el biosimilar de insulina-glargina muestra mucha mayor penetración en el hospital (23,8%) que en el nivel ambulatorio (7%). En este fármaco no se aprecian grandes diferencias entre envases y DDD, a diferencia de lo que sucede en otros casos.

La penetración del condrotinsulfato es muy baja por el momento. En consumo ambulatorio se sitúa por debajo del 1% y en el hospital apenas llega al 3%. Las cifras son muy bajas si bien apuntan al mismo patrón que el mostrado por insulina glargina.

Diferencias territoriales

La estructura del SNS español se ha consolidado en un conglomerado formado por 17 Comunidades Autónomas y dos ciudades cuya población es atendida por el Instituto de Gestión Sanitaria. A estas entidades gestoras de ámbito público se suman Las Mutualidades de funcionarios, de la judicatura y de las Fuerzas Armadas, así como la Sanidad de instituciones penitenciarias. A efectos de comparación es suficiente centrarse en el nivel autonómico dado que una elevada proporción de beneficiarios de las Mutualidades recibe asistencia en los hospitales de las CCAA, y otro tanto sucede con la población reclusa.

En envases, los medicamentos biosimilares suponen el 14,3% del consumo de medicamentos biológicos. El rango de penetración de medicamentos biosimilares se mueve entre el 7 y el 21%

En PVL la media nacional es del 23,4% y los extremos oscilan entre 10,7% y 39,4%.

Conclusiones

Primera. A diferencia de lo acontecido en la última década del siglo XX con los medicamentos genéricos, la entrada de medicamentos biosimilares en el mercado español se está produciendo de forma escalonada

pero progresiva sin que el regulador haya introducido modificaciones de calado en el marco normativo.

Segunda. El regulador de precio y condiciones de financiación está acercando la intervención en el momento de autorización del primer biosimilar en línea con los criterios aplicados a los medicamentos genéricos.

Tercera. Las fuerzas del mercado actúan sobre el precio de los medicamentos biosimilares con mayor intensidad que sobre los medicamentos genéricos. Este proceso, deseable desde la perspectiva del SNS, tiene efecto desincentivador sobre el desarrollo de nuevos biosimilares.

Cuarta. La velocidad de penetración de los nuevos medicamentos biosimilares en el mercado varía en función de si el fármaco es de dispensación ambulatoria u hospitalaria. En el primer caso el proceso es notablemente más lento. El número de competidores es factor importante a la hora de alcanzar un alto nivel de penetración, incluso en el sector hospitalario.

Quinta. La normativa sobre intercambiabilidad juega papel clave en las decisiones de prescripción y es probable que se requiera adaptar el marco normativo a la nueva situación, especialmente en los anticuerpos monoclonales.

Sexta. En las decisiones de los reguladores y adquirientes o prescriptores de medicamentos debe tenerse en cuenta la localización de las producciones de medicamentos biotecnológicos – biosimilares o de referencia – , así como la titularidad de dichas instalaciones. La I+D+i de medicamentos biotecnológicos es costosa y las decisiones de inversión en activos fijos y contratación de personal revisten carácter estratégico y, por ello, la asignación de recursos vía mercado no debe soslayar aspectos tan relevantes y que tienen tanto impacto en el desarrollo socioeconómico.

7. EL FUTURO DE LA BIOTECNOLOGIA

7.1. Proteínas recombinantes de interés farmacológico

Santiago Cuéllar Rodríguez

Introducción

Los **medicamentos biotecnológicos** son denominados genéricamente también **biofármacos**, lo que supone la participación de organismos vivos o sus extractos (células, tejidos, fluidos) para producir el principio activo y que se obtienen mediante procedimientos biotecnológicos a partir de ADN recombinante y procesos de hibridación celular. Atendiendo a su finalidad farmacológico-terapéutica, básicamente podemos considerar cuatro grandes grupos de proteínas recombinantes desarrolladas a partir del modelo natural fisiológico humano o de otros animales (xenobiológicos):

- I. Utilizadas en terapias permanentes de restauración o sustitución funcional fisiológica.
- II. Utilizadas en terapias agudas de inducción, potenciación o inhibición de disfunciones patológicas.
- III. Agentes xenobiológicos con finalidad farmacoterapéutica.
- IV. Biofármacos con finalidad diagnóstica funcional.

I. Terapias permanentes de restauración o sustitución funcional fisiológica

Son biofármacos que requieren ser aplicados de forma permanente o, al menos, crónica para restaurar o sustituir una función fisiológica relevante que está ausente (de forma congénita o adquirida) o que existe de forma deficiente (en cantidad) o ineficiente (tipo funcional). Generalmente, se refiere a enzimas u hormonas clave para determinadas rutas biológicas, cuya ausencia o deficiencia persistente provoca importantes deterioros funcionales fisiológicos -metabolopatías- de carácter acumulativo.

lativo y discapacitante, pudiendo ser eventualmente mortales, incluso durante la infancia en determinados casos.

Ejemplo de este tipo de biofármacos son las diversas formas de **insulina** desarrolladas para adecuarse a las diferentes características de los pacientes con diabetes mellitus de tipo 1 y 2; los análogos recombinantes enzimáticos empleados en **enzimopatías**, muchas de ellas de carácter congénito, como la *sebelipasa* empleada en deficiencia de *lipasa ácida liposomal*. En este sentido, existen miles de condiciones específicas cuyo origen está en defectos genéticos (mutaciones) de uno solo de sus genes (monogénicas) que determina la deficiencia enzimática; sin embargo, también hay un amplio abanico de enfermedades que aparecen como consecuencia de la anomalía combinada de varios genes (poligénicas). Otro ejemplo característico lo forman los derivados y análogos de **factores de coagulación**, indicados en hemofilia A y B y otras deficiencias del sistema fisiológico de coagulación; un ejemplo de incorporación reciente es el *lonoctocog alfa*, es una proteína humana recombinante que sustituye al factor VIII de coagulación ausente en los pacientes con hemofilia A. Por su parte, las **epoetinas** (formas recombinantes de la eritropoyetina humana fisiológica), utilizadas no solo para el tratamiento de la anemia sintomática asociada a la insuficiencia renal crónica en pacientes adultos, sino también en otras formas sintomáticas de anemia asociadas a diferentes trastornos, como las neoplasias no mieloides tratados con quimioterapia o la artritis reumatoide.

Existen importantes cuadros patológicos asociados a deficiencias de hormonas hipofisarias e hipotalámicas susceptibles de ser tratadas mediante la restauración con análogos recombinantes, como es el caso de la **somatropina** (hormona del crecimiento) o de la **mecasermina**, una forma recombinante del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) empleada en niños y adolescentes con un déficit primario grave de éste. También se han utilizado algunas hormonas como modelo para producir agentes funcionalmente antagónicos como el **pegvisomant**, un análogo de la hormona de crecimiento humana modificada biotecnológicamente para ser un antagonista del receptor de ésta, en el tratamiento de la acromegalia. En algunos pacientes, el empleo de **gonadotrofinas** recombinantes se utiliza para paliar la deficiencia congénita o adquirida.

II. Terapias de inducción, potenciación o inhibición puntual de disfunciones patológicas

Implican el empleo de agentes biotecnológicos idénticos o funcionalmente relacionados con proteínas fisiológicas humanas, con carácter puntual o durante pequeños períodos de tiempo, con el fin de inducir, potenciar o inhibir temporalmente una actividad fisiológica en un momento determinado para hacer frente a un proceso patológico o para provocar un efecto terapéuticamente útil.

Probablemente, es el grupo más numeroso de este tipo de medicamentos, por lo que nos limitaremos a reseñar solo algunos ejemplos relevantes. Por otro lado, en este grupo también consideramos algunas macromoléculas no peptídicas como las **heparinas**, fraccionadas o no, como útiles agentes antitrombóticos; si son peptídicas – obviamente – las enzimas **trombolíticas**, algunas de las cuales tienen su origen en proteínas humanas, como la *urocinasa*, mientras que otras tienen un origen microbiano, como la *estreptocinasa* y sus diversos derivados. También en este campo es preciso mencionar el **inhibidor de la C1 esterasa**, autorizado para el tratamiento de los episodios agudos de angioedema hereditario de tipo I y II, o la **antitrombina alfa**, una forma recombinante de antitrombina autorizada para la profilaxis del tromboembolismo venoso en cirugía de pacientes con deficiencia congénita de antitrombina.

Son numerosas las indicaciones terapéuticas de las diversas formas recombinantes de las hormonas sexuales de origen hipofisario. Un simple ejemplo representativo es la **folitropina alfa**, una forma recombinante de la FSH humana (hormona folículo-estimulante), autorizada para indicaciones tan diversas como anovulación (incluyendo el síndrome del ovario poliquístico), estimulación del desarrollo folicular múltiple en mujeres sometidas a técnicas de reproducción asistida, estimulación del desarrollo folicular en mujeres con deficiencia grave de LH y FSH; en varones adultos está indicada para estimular la espermatogénesis en varones con hipogonadismo hipogonadotropo congénito o adquirido.

Las **citocinas** y sus análogos, todos ellos en forma recombinante, han entrado de lleno en la terapéutica farmacológica. Entre ellas están los *mediadores de la inmunidad natural* implicados mayoritariamente en la inflamación aguda y en las defensas antes de que se inicie la res-

puesta inmunitaria, entre las que cabe citar a la tasonermina (TNF- α) y los diferentes tipos de interferones, los cuales tienen una amplia diversidad de indicaciones: esclerosis múltiple para el **interferón beta** y hepatitis B y C, y diversas formas de leucemia y linfomas, mieloma múltiple y melanoma para el **interferón alfa**. Entre de los *reguladores linfocitarios* puede citar a la **aldesleucina**, un análogo recombinante de la interleucina 2 (IL-2) indicado en el tratamiento del carcinoma metastásico de células renales. También merece una especial consideración los *reguladores de leucocitos inmaduros*, fisiológicamente implicados en la hematopoyesis y en el crecimiento y diferenciación de las células progenitoras de la médula ósea y conocidos colectivamente como factores estimulantes de colonias (*colony stimulating factor, CSF*), entre los que se encuentran el ampliamente utilizado **filgrastim** (del cual hay varios biosimilares ya comercializados) y sus derivados **pegfilgrastim** y **lipegfilgrastim**, así como el **lenograstim**.

La **dibotermina alfa** es una forma recombinante de la *proteína-2 humana morfogénica*, uno de los miembros de la superfamilia de factores de crecimiento y diferenciación TGF- β (*Factor de Crecimiento Transformante Beta*). La proteína osteogénica está fisiológicamente implicada en la morfogénesis ósea, con acción inductora de la formación de nuevo tejido óseo, a través de la unión a receptores específicos de superficie presentes en las células mesenquimatosas, induciendo su diferenciación en células formadoras de hueso y de cartílago. La dibotermina va contenida en una matriz o esponja bioadsorbible, formada por colágeno. Se utiliza mediante la colocación quirúrgica en el sitio defectuoso, en contacto con la superficie ósea previamente preparada.

La **ocriplasmina** se corresponde con una fracción de la *plasmina humana*, de la que conserva su actividad proteolítica, capaz de actuar sobre determinadas proteínas presentes en el vítreo ocular, especialmente *laminina, fibronectina y colágeno*, lo que se traduce en una desagregación de la matriz proteica responsable de la adherencia vitreomacular y de la tracción vitreomacular. Ha sido autorizada para su administración intravítreo en el tratamiento de la tracción vitreomacular (TVM).

III. Agentes xenobiológicos con finalidad farmacoterapéutica

Son biofármacos procedentes o modificados a partir de organismos ajenos al ser humano, con capacidad de provocar en éste respuestas potencialmente útiles en la prevención o en el tratamiento curativo o paliativo de condiciones patológicas. Incluimos en este grupo a agentes que tienen – parcial o totalmente – una estructura no proteica, sino polisacáridica o liposacáridica, como ocurre con numerosas vacunas, por ejemplo.

Las únicas **calcitoninas** utilizadas en clínica no son humanas sino, curiosamente, de salmón, mucho más potentes pero funcionalmente idénticas; se utilizan en la prevención de pérdida aguda de masa ósea debida a inmovilización repentina como en el caso de pacientes con fracturas osteoporóticas recientes, así como en la enfermedad de Paget y en la hipercalcemia tumoral.

La **pegaspargasa** es una forma pegilada de la asparaginasa, autorizada como parte del tratamiento de la leucemia linfocítica aguda. Esta asparaginasa se extrae de la *Escherichia coli* y otras bacterias (*Serratia marcescens*, *Erwinia spp*) y el proceso de pegilación – mediante la unión de varias cadenas poliméricas de polietilenglicol, PEG) permite prolongar el tiempo de residencia en el organismo de la asparaginasa, manteniendo su plena capacidad farmacológica, incrementando la estabilidad molecular y disminuyendo la proteólisis y excreción renal. Este proceso de *pegilación* ha sido utilizado por otras proteínas funcionales con fines farmacológicos (pegfilgrastim, etc.), para reducir la frecuencia de dosificación.

La combinación (Xiapex®) de dos **colagenasas** del *Clostridium histolyticum*, que hidrolizan el colágeno y facilita la rotura enzimática de la banda o cordón de Dupuytren al hidrolizar los colágenos de tipo I y III, que constituyen la mayoría del colágeno acumulado en esta localización y de esta manera, la contractura de Dupuytren desaparece en pacientes adultos que presenten un cordón palpable.

La **toxina botulínica** es otro ejemplo característico de agente xenobiológico. Su potente acción inhibidora de la liberación de acetilcolina en la unión neuromuscular (se trata de la sustancia con mayor potencia biológica conocida), produce una parálisis temporal y localizada en el

músculo esquelético. La recuperación de esta parálisis parece implicar la regeneración de las terminaciones nerviosas de las fibras nerviosas motoras (que inervan el músculo), restableciendo la conexión entre éstas y la placa neuromuscular.

La bacteria *Clostridium botulinum* es capaz de producir hasta siete tipos serológicamente diferentes de toxina botulínica: A, B, C, D, E, F y G (aunque solo están comercializadas la A y la B). Todas ellas son potentes agentes paralizantes, por lo que cualquier de ellas puede ser utilizada en los numerosos fines terapéuticos para los que han sido autorizados los diversos medicamentos con toxina botulínica comercializados: blefaroespasmo, espasmo hemifacial, tortícolis espasmódica, espascticidad asociada a parálisis cerebral y a ictus, hiperhidrosis primaria y las cosméticas *arrugas faciales*.

El **surfactante pulmonar** es una mezcla de sustancias, principalmente fosfolípidos y proteínas específicas, que tapizan la superficie interna de los alveolos y son capaces de disminuir la tensión superficial. Está autorizado (hay dos, uno de origen bovino y otro porcino) para el síndrome de distrés respiratorio neonatal.

La **ziconotida** es un análogo sintético de un ω -conopeptido, el MVIIA, presente en el veneno de un caracol marino piscívoro (*Conus magus*). Se trata de un potente analgésico empleado en dolor crónico grave, que actúa como bloqueante reversible, selectivo y de alta afinidad sobre los canales de calcio de tipo N sensibles al voltaje (CCN), provocando la inhibición de la corriente sensible al voltaje en las vías aferentes nociceptivas principales que acaban en las capas superficiales del asta dorsal de la médula espinal. Con ello, se bloquea la liberación de los neurotransmisores correspondientes, incluyendo la sustancia P, impidiendo por tanto la señalización medular del dolor. Se administra intratecalmente.

Hay varios extractos alergénicos estandarizados. Entre los últimos comercializados se encuentran el de los ácaros del polvo doméstico *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Dermatophagoides farinae*, indicado en pacientes adultos diagnosticados por su historia clínica y prueba positiva de sensibilización, que presenten rinitis alérgica o asma alérgica por ácaros del polvo doméstico.

IV. Biofármacos con finalidad diagnóstica funcional

Algunos fármacos son susceptibles de facilitar el diagnóstico de numerosas patologías, especialmente de aquellas para las que existen particulares limitaciones en cuanto a información clínica objetiva a partir de una anamnesis. Esto es particularmente cierto en el caso de determinados trastornos funcionales; por otro lado, no sólo es importante determinar su origen en estos últimos, sino también poder cuantificar el fenómeno y valorar la propia respuesta orgánica ante la administración de determinadas sustancias, todo ello como una información especialmente relevante para poder prevenir, curar, limitar el progreso o paliar los efectos la enfermedad. En este sentido, la utilización de diversos medicamentos con fines diagnósticos funcionales permite obtener una información verdaderamente determinante en numerosos pacientes. Como ejemplo de ellos, cabe citar entre otros a **somatropina**, **somatorelina**, **somatostatina**, **desmopresina**, **tuberculina**, **tirotropina**, **protirelina**, **gonadorelina**, **insulina**, etc.

Perspectivas

Las proteínas fisiológicas funcionales constituyen una importante fuente de obtención de medicamentos fundamentales, gracias a la producción de análogos biotecnológicos. Con la generalización de la terapia génica, algunas de ellas dejarán de tener relevancia, especialmente para las patologías asociadas a mutaciones monogénicas, objetivo primario de la terapia génica. Sin embargo, a pesar de ello, la mayoría seguirá ejerciendo un papel decisivo en la terapéutica farmacológica durante las próximas décadas.

Bibliografía

- (1) Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. 2018. Bot PLUS (actualizado al 24 de abril de 2018)
- (2) Cuéllar Rodríguez S. 2017. Productos biológicos utilizados en enfermedades neoplásicas. En: *Trastornos oncológicos*. p. 121-175. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos; Madrid.

- (3) Cuéllar Rodríguez S. 2018. Perspectivas de la inmunoterapia del cáncer. *Panorama Actual. Med.* 42(412): 273-303
- (4) Cuéllar Rodríguez S. Diagnóstico funcional farmacológico. En: *Terapéutica farmacológica de los trastornos dermatológicos, oftalmológicos y otológicos. Agentes farmacológicos de diagnóstico*. Madrid: Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos; 2014. p. 267-98.

7.2. Anticuerpos monoclonales

Antoni Iborra

Los medicamentos convencionales se obtienen a partir de procesos químicos, fácilmente estandarizables, que permiten la producción masiva bajo un riguroso control de calidad. Este es un proceso común en la industria farmacéutica. Una segunda estrategia en la fabricación de medicamentos es a través de procesos biológicos que permiten la obtención de sustancias producidas por organismos vivos, como bacterias, parásitos o células para poder desarrollar el medicamento biológico. En este caso hablamos de medicamentos biotecnológicos.

Los anticuerpos monoclonales (mAbs) forman parte de estos medicamentos biotecnológicos sea cual sea la metodología utilizada en su obtención: desde la obtención de hibridomas descrita por Köhler y Milstein en el año 1975 (1), o los que pertenecen a la segunda generación (quiméricos y humanizados), o los que pertenecen a la tercera generación (mAbs obtenidos con la técnica del phage display o bien con la utilización de animales transgénicos), o anticuerpos modificados a fin de conjugar diferentes sustancias o drogas.

El valor global del mercado de anticuerpos es aproximadamente de 20.000 millones de dólares por año (2). Actualmente, más de 30 mAbs están aprobados por la FDA para su uso en humanos en el tratamiento de diversas enfermedades que incluyen el cáncer, la inflamación crónica, los trasplantes, enfermedades infecciosas y cardiovasculares. Estos mAbs, son el resultado de un proceso mucho más complejo que el utilizado para la generación de medicamentos químicos, son consecuencia de la utilización y modificación de un organismo vivo para que “fabrique” una sustancia que de forma natural no produciría.

El desarrollo de nuevos mAbs es una vía de investigación e inversión estratégica de las grandes empresas biofarmacéuticas. Actualmente, 27 empresas biotecnológicas están desarrollando más de 250 mAbs que se encuentran en diversas etapas de investigación, pero un elevado porcentaje todavía se encuentran en estadios muy iniciales de las Fases I y II. Más de la mitad (55%) están destinados al tratamiento del cáncer, mien-

tras que el 32% se dirige a trastornos inmunológicos e inflamatorios, y el 13% se desarrollan para el tratamiento de enfermedades infecciosas, cardiovasculares, y otras enfermedades. El desarrollo de anticuerpos monoclonales presenta un relativo índice de éxito (23%), y un notable éxito en su utilización en trastornos inmunológicos e inflamatorios (24%) y sobre el cáncer (14%) si lo comparamos con los índices de éxito de las nuevas entidades químicas (NCE) en general y por las NCEs en oncología que registran un 11% y un 5%, respectivamente (3).

El desarrollo de un monoclonal es largo y costoso. La producción masiva de anticuerpo es un proceso muy complejo que se ha de realizar bajo un control de calidad riguroso, que permita evaluar los diferentes lotes de monoclonal generados. En la actualidad, existe una fuerte presión por parte de los investigadores, que reclaman una correcta validación de los anticuerpos que se utilizan en investigación. Muchos de los anticuerpos comerciales utilizados en investigación no están bien validados y los resultados generan grandes pérdidas económicas (4,5). Podemos afirmar que la validación de los monoclonales es un objetivo que se tendrá que recorrer en los próximos años creando procedimientos estandarizados que permitan disponer de anticuerpos específicos y validados para la investigación.

Así mismo, el escalado a nivel industrial, que permitirá disponer de las cantidades adecuadas de mAb para ser utilizado como herramienta terapéutica, puede producir diferencias en la calidad del anticuerpo resultante, en función de los métodos de escalado utilizados. Diversos procesos, como el crecimiento, las posibles modificaciones del anticuerpo, la purificación de los anticuerpos (6), requerirán procedimientos bien establecidos y controlados, que permitan evaluar y garantizar la calidad de los diferentes lotes de mAb así como su funcionalidad a medida que cambien los métodos de obtención de dichos lotes. Esta estrategia ha de permitir la optimización y abaratamiento de los costes de producción de los diferentes anticuerpos que se están utilizando (7).

A pesar de su éxito, la terapia basada en anticuerpos todavía presenta una larga lista de deficiencias importantes, que tendremos que superar en el futuro a fin de explotar plenamente su potencial terapéutico. Las principales desventajas de los anticuerpos terapéuticos incluyen aspectos como una eficacia limitada en la penetración tumoral, debida prin-

cipalmente a la naturaleza del propio tejido, resultados de baja eficacia del tratamiento *in vivo*, las dificultades propias de la administración al paciente a lo largo del tiempo, la agregación de los anticuerpos, problemas de solubilidad y los elevados costes de producción (8). Los avances recientes para mejorar la potencia y eficacia de los mAbs a fin de lograr una prescripción de dosis inferiores y potencialmente reducir los costes son prometedores. Para ello, se siguen diversas estrategias, como la eliminación de los sitios de glicosilación del dominio variables del anticuerpo a fin de mejorar la función efectora de los mAbs, como la citotoxicidad mediada por células dependiente de los anticuerpos (ADCC), que modulan la activación de células inmunes innatas del paciente para matar una célula diana como la célula tumoral (9,10).

El uso de la ingeniería de anticuerpos ha de permitir, en el futuro más próximo, mejorar las propiedades de los anticuerpos terapéuticos existentes. En las últimas décadas se han generado un conjunto de nuevos formatos para los mAbs, que ofrecen mejoras para su utilización en la investigación y la terapia. Normalmente, nos referimos a estas nuevas moléculas con el término de “*biobetter antibodies*” o anticuerpos de próxima generación, e incluyen aquellos que están diseñados con funciones efectoras mejoradas, anticuerpos modificados con la unión de fármacos (Antibody Drug Conjugate, ADC), anticuerpos multiespecíficos y fragmentos de anticuerpos de dominio único (nanobodies) (11-13).

Un tema que ganará importancia en los próximos años es la presencia de nuevos biosimilares, a partir de los monoclonales ya establecidos, pero para los que ya ha finalizado su protección de patente. La salida al mercado de estos biosimilares ha de permitir el abaratamiento de los costes que conlleva la administración de mAbs como agentes terapéuticos (14,15), pero, en el futuro, será necesario que el colectivo médico se enfrente a preguntas como: es clínicamente adecuado cambiar el tratamiento con el producto de referencia, en pacientes clínicamente estables, a un nuevo biosimilar disponible, o desde un biosimilar a otro. Será necesario un seguimiento de los diferentes monoclonales que se hayan generado a partir del original (16). Para algunos monoclonales como trastuzumab o cetuximab, ya existen, además de los mAb originales, sus versiones como biosimilares, *biobetter*, y de nueva generación con modificaciones (17).

Del diseño o descubrimiento de una molécula a su comercialización pueden pasar muchos años, aproximadamente quince, ello comporta la participación de los diferentes agentes del sistema de I+D+i. Desde el descubrimiento y diseño, muchas veces a través de la investigación básica desarrollada en centros universitarios o centros de investigación independientes, a los estudios preclínicos, que suponen una fuerte inversión, es un proceso que solo pueden asumir las industrias multinacionales del campo farmacéutico. Este hecho conlleva que ningún medicamento biotecnológico se pueda obtener de manera similar a otro y por tanto que sea necesario el seguimiento de estudios clínicos. Del descubrimiento a la comercialización, la inversión total puede ser superior a los 1000 millones de euros. En el futuro, la transversalidad de los diferentes participantes será un factor clave en el desarrollo de herramientas terapéuticas nuevas y mejores, así como la utilización de los mAbs en sensores cada vez más específicos y sensibles, que permitan la realización de un diagnóstico rápido y eficaz (18) y que contribuyan, así mismo, a tratar las patologías con un mejor pronóstico, y abaratar los tratamientos.

Bibliografía

- (1) Köhler G., Milstein C., 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256 (5517), 495–497.
- (2) Yamada T. Therapeutic monoclonal antibodies. *Keio J Med* 2011;37–46.
- (3) Meyer-Tamaki KB., 2017. A comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development. Second Edition 617-645. *Academic Press*, Michigan.
- (4) Bradbury A., Plückthun A. 2015. Reproducibility: Standardize antibodies used in research. *Nature*, 518 (7537) :27.
- (5) Baker M. 2015. Antibody anarchy: A call to order. *Nature* ,527: 545–551.
- (6) Girard V., Hilbold NJ, Ng CKS., Pegon L., Chahim W., Rousset F., Monchois V.2015. Large-scale monoclonal antibody purification by continuous chromatography, from process design to scale-up. *Journal of Biotechnology* 213: 65–73.

- (7) Tripathi NK., Shrivastava A. 2018. Nanoscale Fabrication, Optimization, Scale-Up and Biological Aspects of Pharmaceutical Nanotechnology. Chapter 4: Scale up of biopharmaceuticals production. Pages 133-172 *Elsevier*. Bucarest.
- (8) Chames P., Van Regenmortel M., Weiss E., Baty D. 2009. Therapeutic antibodies: successes, limitations and hopes for the future, Br. J. Pharmacol. 157: 220–233.
- (9) Quinteros DA., Bermúdez JM., Ravetti S., Cid A., Allemandi DA., Palma SD. 2017. Therapeutic use of monoclonal antibodies: General aspects and challenges For drug delivery. Nanostructures for Drug Delivery. Chapter 25: 807-833. *Elsevier Inc.* Bucarest.
- (10) Elgundi Z., Reslan M., Cruz E., Sifniotis V., Kayser V. The state-of-play and future of antibody therapeutics. 2017. Advanced Drug Delivery Reviews 122: 2–19.
- (11) Niwa R., Satoh M. 2015. The current status and prospects of antibody engineering for therapeutic use: focus on glycoengineering technology, J. Pharm. Sci. 104:930–941.
- (12) Evans JB., Syed BA. 2014. From the analyst's couch: next-generation antibodies, Nat.Rev. Drug Discov. 13: 413–414.
- (13) Krishnamurthy A., Jimeno A. 2018. Bispecific antibodies for cancer therapy: A review. Pharmacology and Therapeutics 185:122–134
- (14) Beck A., 2011. Biosimilar, biobetter and next generation therapeutic antibodies. mAbs 3(2): 107–110.
- (15) Emmanouilides CE., Karampola MI., Beredima M. 2016. Biosimilars: hope and concern. J. Oncol. Pharm. Pract. 22 (4), 618–624.
- (16) Declerck P., Bakalos G., Zintzaras E., Barton B., Schreitmüller Th. 2018. Monoclonal Antibody Biosimilars in Oncology: Critical Appraisal of Available Data on Switching Clinical Therapeutics 40(5):798–809.
- (17) Beck A., Sanglier-Cianfrani S., Van Dorsselaer A. 2012. Biosimilar, Biobetter, and Next Generation Antibody Characterization by Mass Spectrometry . Anal. Chem. 84 (11):4637–4646.
- (18) Sharma S., Byrne H., O'Kennedy RJ. Antibodies and antibody-derived analytical biosensors. 2016. Essays in Biochemistry. 60:9–18.

7.3. Perspectivas de la immunoterapia del cáncer (*)^a

Santiago Cuéllar Rodríguez

Como ocurre con las células normales, las células tumorales expresan proteínas con carácter antigénico - antígenos tumorales – en su membrana que pueden ser reconocidos como extraños por el sistema inmune. Esto puede ayudar a entender cómo ciertos tumores experimentan una regresión espontánea sin tratamiento y, al mismo tiempo, está permitiendo desarrollar estrategias para modular las respuestas inmunes antitumorales. Las inmunoterapias contra el cáncer que explotan esta capacidad constituyen un cambio de paradigma en el tratamiento del cáncer, produciendo éxitos donde las terapias convencionales contra el cáncer – basadas en la destrucción no selectiva de células con alta tasa de proliferación – fracasan. Los avances en este campo son continuos, centrándose fundamentalmente en la caracterización de los antígenos dirigidos por la inmunidad antitumoral y el aprendizaje correspondiente para diseñar inmunoterapias específicas de mayor beneficio clínico. Los mecanismos por los que el sistema inmune reacciona frente a las células tumorales suponen una intrincada red de eventos que implican tanto el sistema inmune innato como el adaptativo, iniciado por la captación, procesamiento y presentación de antígenos tumorales por células presentadoras de antígeno (APC), seguido por cebado y activación de linfocitos T y concluyendo con la infiltración de linfocitos T efectores al sitio del tumor donde ejercen su actividad citotóxica; todo lo cual desemboca potencialmente en la eliminación del tumor. Sin embargo, también las células tumorales son capaces de desarrollar mecanismos de escape o evasión – immunoevasión – frente a la acción del sistema inmune; para paliarlos, se han ido desarrollando diversos enfoques terapéuticos que actúan en diferentes etapas de la cascada del proceso inmune antitumoral. Básicamente, pueden dividirse en dos grandes grupos; por un lado, la inmunoterapia a base de **citocinas** u otras moléculas inmunomoduladoras, capaces de potenciar la actividad general del sistema inmune; por otro, aquellas terapias que provocan una respuesta inmune específica *in vivo* o el empleo de células inmunitarias del propio paciente estimuladas y cultivadas (*expandidas*) *ex vivo* que

(*) Este apartado es un resumen del artículo: Cuéllar Rodriguez S. Perspectivas de la inmunoterapia del cáncer. *Panorama Actual Med* 2018; 42 (412):273-303.

posteriormente son reintroducidas en el paciente.

A continuación revisamos de forma breve algunos de los principales agentes utilizados o en fase de estudio en el área de la inmunoterapia del cáncer.

Citocinas

Las citocinas – especialmente, determinadas interleucinas – juegan un papel crucial en la estimulación y regulación de la respuesta inmunitaria frente a los antígenos, pero su uso directo en clínica es muy limitado debido a los graves efectos tóxicos relacionados con su naturaleza pleiotrópica y a menudo doble función al estimular y suprimir simultáneamente la respuesta inmune a diferentes niveles, tal como ocurre con la interleucina 2 (IL-2), empleada en clínica como **aldesleukina** (Proleukin®) para el tratamiento del carcinoma metastásico de células renales. También se ha estudiado la administración directa de **interleucina 12** (IL-12) mediante nanopartículas de quitosano, dada la condición de la IL-12 de ser una potente citocina proinflamatoria que potencia la diferenciación de los linfocitos *facilitadores Th1*, la proliferación de linfocitos T activados y de células NK y la inmunidad mediada por células.

Virus oncolíticos

Los virus oncolíticos son virus modificados genéticamente con capacidad para infectar a todas las células pero que solo se replican en las células tumorales, acumulándose en gran cantidad dentro de éstas y se liberan de manera masiva, provocando la muerte selectiva de la célula tumoral. La oncolisis puede ser una propiedad natural del virus, como ocurre con algunos *Reovirus*, o una consecuencia de la manipulación del genoma viral, para lo que suele echarse mano habitualmente de los *Adenovirus*. Esta propiedad ha permitido el desarrollo de la viroterapia oncolítica – el uso de virus activos con capacidad replicante – para el tratamiento de determinadas formas de cáncer. Un ejemplo de esta estrategia fue el **talimogene laherparepvec** (Imlygic®; T-VEC), una variante de virus del Herpes simplex de tipo 1 (HSV-1) genéticamente modificada, que fue autorizado en los Estados Unidos (FDA) y la Unión

Europea (EMA) en 2015 para tratar a adultos con un determinado tipo de melanoma. Asimismo, las combinaciones de virus oncolíticos con fármacos inmunomoduladores o anticuerpos que reacondicionan el microambiente tumoral han demostrado ser muy prometedoras, así como las combinaciones con otros regímenes inmunoterapéuticos, como las células T CAR. Finalmente, los virus oncolíticos se han combinado con agentes activos sobre señalización bioquímica (inhibidores de tirosina cinasa, etc.), mostrando una notable eficacia antitumoral.

Bacterias

Las bacterias presentan características muy útiles para ser utilizadas como terapia antitumoral. Por un lado, la relativamente fácil manipulación de su material genético permite realizar modificaciones para que puedan producir toxinas que destruyan unas células tumorales o producir factores que aumenten la actividad del sistema inmune antitumoral del paciente, así como también pueden actuar como transporte de otras estructuras antitumorales, como los ácidos ribonucleicos sintéticos de interferencia (siRNA) o los virus oncolíticos ya mencionados. Se está estudiando actualmente una terapia personalizada conocida como **pLADD**, consistente en una cepa de *Listeria monocytogenes* doblemente suprimida (LADD, *Listeria monocytogenes doubled- deleted*),viva y atenuada, que ha sido diseñada para codificar múltiples neoantígenos específicos de tumores. La plataforma LADD es un enfoque atractivo para la inmunoterapia personalizada debido a la rápida modificación y liberación de cepas clínicas. Además, se ha establecido su perfil clínico de seguridad y eficacia en numerosos pacientes, y se ha mostrado una robusta activación de la inmunidad innata y el remodelado del microambiente tumoral en modelos preclínicos y en pacientes.

Anticuerpos selectivos antitumorales

Se han desarrollado anticuerpos portadores de toxinas que inducen la muerte celular, donde el anticuerpo tiene como misión favorecer el ingreso selectivo de la toxina a la célula tumoral para ejercer su efecto. Por ejemplo, el **brentuximab vedotina** (Adcetris[®]) es un anticuerpo monoclonal conjugado con un agente citotóxico (vedotina) que es capaz de

provocar la apoptosis específicamente de células que presenten la proteína CD30 en su superficie. Ha sido autorizado para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma de Hodgkin CD30+ en recaída o refractario. Otro ejemplo es el **trastuzumab emtansina** (Kadcyla®) un conjugado de un anticuerpo dirigido contra HER2 (trastuzumab), unido mediante enlace covalente al inhibidor microtubular DM1 (emtansina). El medicamento está indicado para el tratamiento como agente único de pacientes adultos con cáncer de mama HER2 positivo localmente avanzado irresecable o metastásico, que han recibido previamente trastuzumab y un taxano por separado o en combinación.

Una variante de los conjugados anteriores es la radioinmunoterapia (RAIT), que consiste en incorporar un radionúclido emisor de radiación ionizante letal pero de corto radio de influencia (milímetros o centímetros) a un anticuerpo dirigido contra un antígeno específico de un tumor. El efecto tumoricida se consigue por una baja pero continua dosis de radiación. Existen ya fármacos de este tipo autorizados, como el **ibritumomab tiuxetan itrio** (Zevalin®), un anticuerpo monoclonal recombinante murino tipo IgG1 kappa específico para el antígeno CD20 de las células B, ligado a itrio radiactivo; está indicado para el tratamiento de consolidación después de la inducción de la remisión en pacientes con linfoma folicular no tratados anteriormente; asimismo, está indicado para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma no Hodgkin (LNH) folicular de células B CD20+ en recaída o refractario a rituximab.

Células Tumorales Circulantes (CTC)

Las células tumorales circulantes (*circulating tumor cells*; CTC) son células cancerosas que se desprenden del tumor primario y después de entrar en el torrente sanguíneo se detienen en sitios distales para iniciar la metástasis del cáncer. A pesar de que su primera noticia se remonta 1869, en realidad el interés derivado del aislamiento de estas células solo se ha reactivado en el siglo XXI. Los motivos de este relativo abandono están claramente relacionados con los desafíos técnicos que suponen la detección y el aislamiento de estas células, ligada a su extraordinaria heterogeneidad y a su no menos excepcional escasez: una CTC entre uno y mil millones de células sanguíneas normales. En este sentido, se han ido desarrollando -todavía con carácter preliminar- algunas estra-

tegias como aislar CTC de los productos de leucoférésis, con el fin de poder utilizar volúmenes de sangre mucho mayores (en torno a 10L) que el comúnmente utilizado para el análisis de CTC (5-10 mL) o, alternativamente, otros grupos están desarrollando productos de ingeniería tisular basados en **andamios implantables** (*implantable scaffolds*) que son capaces de capturar y atrapar CTC, con ayuda de siembras celulares o adyuvantes para modular el entorno inmune dentro del andamio.

Terapia celular somática anticancerosa

La utilización de terapia celular somática en oncología ya era objeto de investigación intensiva hace más de una década. En concreto, la renovación de las células madre ha sido utilizada ampliamente en el tratamiento de leucemias y linfomas. Células madre hematopoyéticas con capacidad para diferenciarse en los diferentes tipos celulares sanguíneos, han sido utilizadas en conjunto con quimioterapia con el fin de reducir hematotoxicidad de esta última.

La importancia de la terapia antitumoral celular somática ha adquirido un inusitado protagonismo terapéutico, dado que los espectaculares avances producidos en la farmacología antineoplásica se han visto frenados por el hecho de que frecuentemente es difícil obtener una alta concentración intratumoral de los fármacos, debido a la falta de selectividad, que deriva en la aparición de efectos adversos inaceptables.

Un fármaco antineoplásico ideal debería disponer de un vehículo terapéutico que le permitiese llegar específicamente al tumor, tras salir fácil y rápidamente del torrente sanguíneo, y no presentar problemas de inmunidad. Estas condiciones pueden ser cumplidas satisfactoriamente por algunos tipos celulares del propio paciente. En este sentido se han utilizado leucocitos de sangre periférica cultivados con IL-2 para obtener linfocitos activados. Se han realizado ensayos clínicos combinando la administración de interleucina 2 y de linfocitos activados, observándose que los efectos antitumorales se han correlacionado con la dosis de IL-2 y el número de células administradas.

Por otro lado, los linfocitos que infiltran los tumores poseen una actividad única antitumoral y pueden ser expandidos *ex vivo* también con

IL-2. Estas células se han utilizado ya en terapias inmunomoduladoras, especialmente con melanomas, obteniéndose respuestas parciales clínicas en los pacientes tratados con la infusión de estos linfocitos.

Otros ejemplos de proyectos de investigación en curso son la utilización de células tumorales como vehículos terapéuticos, o el uso de células madre mesenquimales (mesenchymal stem cells, MSC) activadas para que produzcan interferón gamma.

Terapia Celular Adaptativa

La transferencia o terapia celular adaptativa (*adoptive T Cell therapy; ACT*) es un tipo de immunoterapia experimental. Uno de sus métodos consiste en extraer las células T citotóxicas que han invadido el tumor del paciente, conocidas como **linfocitos infiltrados en el tumor**. Se seleccionan las células con mayor actividad antitumoral, se cultivan – expanden – grandes poblaciones de estas células en el laboratorio y se activan con citocinas. El siguiente paso es volver a administrar las células al paciente. El evidente objetivo del procedimiento es que, si las células tumorales suprimen la actividad de los linfocitos infiltrados en el tumor que son generados de forma natural, sería posible contrarrestar esa supresión exponiendo al tumor a cantidades masivas de linfocitos infiltrantes activados.

Alternativamente, especialmente para aquellos tipos de cánceres en los que linfocitos T específicos antitumorales son menos espontáneos, los linfocitos T pueden expandirse a partir de células T modificadas genéticamente por el paciente que expresan un receptor de células T específico de tumor (*T cell receptor, TCR*) o un TCR químérico (híbrido) compuesto de una fracción de inmunoglobulina (Ig) sintética fusionada con los componentes de señalización TCR, llamado **receptor CAR** (*chimeric antigen receptor; CAR*). Las proteínas CAR facilitan la unión de las células a unas proteínas específicas en la superficie de las células cancerosas, lo cual activa a las células T para atacarlas. Y este es el fundamento de la **terapia con células T y CAR** (TCAR).

Vacunas anticancerosas

Las vacunas anticancerosas son sustancias capaces de estimular o restaurar la capacidad del sistema inmunitario para prevenir, detectar y eliminar células tumorales, de igual manera que las vacunas tradicionales ayudan a prevenir las infecciones producidas por microorganismos. De acuerdo con ello, pueden distinguirse dos tipos esenciales de vacunas anticancerosas:

- **Vacunas preventivas (profilácticas).** Dirigidas a activar el sistema inmune para que destruya a agentes biológicos (principalmente virus) que están estrechamente relacionados con la inducción de determinados tipos de cáncer, como ocurre con determinados genotipos del virus de papiloma humano (VHP) y el cáncer de cuello de útero, o del virus de la hepatitis B y el carcinoma hepático. Por tanto, son vacunas que se administran a personas sanas, antes de que desarrollen cáncer.
- **Vacunas terapéuticas.** Dirigidas a potenciar selectivamente - incluso personalmente – la respuesta inmune frente a determinadas formas de cáncer. Generalmente, están concebidas para que activen las células T citotóxicas y para dirigirlas a que reconozcan y actúen contra tipos específicos de cáncer o para inducir la producción de anticuerpos que se unan a las moléculas en la superficie (antígenos) de las células cancerosas.

7.4. Aplicaciones biomédicas de los oligonucleótidos

Carlos J. Ciudad

Este apartado tiene por objetivo revisar los diferentes tipos de oligonucleótidos más utilizados (antisentido, antagomirs, saltos de exón, siRNA, decoys, aptámeros, TFOs, PPRHs) en relación con sus aplicaciones más comunes.

1. Oligonucleótidos antisentido

Los oligonucleótidos antisentido son moléculas de ADN con una secuencia que es complementaria y antiparalela, es decir en orientación inversa, a la del ARN que se desea inhibir, y a la que se une mediante enlaces de Watson y Crick (W:C). Para evitar su degradación, mediante las nucleasas celulares, los oligonucleótidos pueden modificarse químicamente. La modificación más frecuente es la fosfotioato (PS), pero también son frecuentes las siguientes: LNAs (locked nucleic acid), metil citidina, morfolinos, y PNAs (peptide nucleic acid). Sin embargo, se ha de tener en cuenta que cualquier modificación puede suponer una disminución o “penalty” en la afinidad de hibridación del oligonucleótido a su diana.

Los oligonucleótidos antisentido se pueden utilizar como silenciadores génicos, o inhibidores de la expresión génica, inhibiendo la traducción del ARN a proteína y estimulando la actividad de la ARNasa H que degrada el ARN. Esto es debido a que la ARNasa H se activa por la presencia de heteroduplex ADN/ARN, ya que un oligonucleótido antisentido está formado por una secuencia de ADN que se hibrida al mRNA diana. Aunque se pueden diseñar oligonucleótidos contra cualquier región del ARN, las más efectivas son aquellas dirigidas contra la zona de inicio de la traducción, ya que en esta localización el oligonucleótido competirá con el inicio de traducción por el ribosoma. Ejemplos de oligonucleótidos antisentido aprobados por la FDA son Fomivirsen (1,2) contra la retinitis inducida por citomegalovirus, que ha sido retirado del mercado, y Mipomersen (también denominado Kynamro) dirigido contra la apolipoproteína B para reducir los niveles altos de colesterol (3).

2. Antagomirs

Cuando los oligonucleótidos están dirigidos contra los micro-ARNs reciben el nombre de Antagomirs y son utilizados para neutralizar la acción de los miARNs que constituyen unos reguladores secundarios de la expresión génica, ya que modulan la traducción de los mARNs generalmente por unión a la zona 3'-UTR (untranslated región). De esta forma, un antagomir podría activar la expresión de un gen al liberarse de la represión que pueda ejercer un miARN sobre la traducción de un determinado mARN. Hasta hoy, solo hay un compuesto, SPC3649 de Santaris Pharma, también denominado Miravirsen (4), un inhibidor del micro-ARN miR-122, que ha entrado en ensayos clínicos contra el virus de la hepatitis C.

3. Oligonucleótidos de salto de exón

Los oligonucleótidos también pueden bloquear de manera estérica el acoplamiento del ARN (splicing) y provocar saltos de exones (exón skipping). De esta forma, por ejemplo, se ha podido restaurar la funcionalidad perdida por mutaciones del gen de la distrofina, provocando saltos de exones que restablecen el marco de lectura del gen y da lugar a proteínas más pequeñas, pero funcionales. Este es el caso de los oligonucleótidos Eterplirsen (Exondys-51) (5) y Drisapersen (Kyndrisa) de 30 nt (6) diseñados para producir un salto del exón 51. Solo uno de ellos (Eterplirsen) fue aprobado por la FDA.

En diciembre del 2016, la FDA aprobó el Spinraza (también denominado Nusinersen) (7), un oligonucleótido antisentido de 18 nt para el tratamiento de la AME (Atrofia Muscular Espinal) por inclusión del exón 7 del gen SMN1.

4. RNAs de interferencia

Los oligonucleótidos de ARN forman parte de las moléculas silenciadoras que constituyen los ARNpis o ARNs de interferencia (ARNi) que también degradan e inhiben la expresión génica. Los ARNpis (o siRNAs

en inglés) son moléculas formadas por secuencias de oligonucleótidos de ARN de doble cadena hibridados por W: C de manera antiparalela. Una de las cadenas es la guía o antisentido a la del ARN diana que se desea silenciar.

En los inicios de la utilización de los ARNi surgieron varios problemas como por ejemplo su vida media corta debido a su degradación por ARNsA A y aclaramiento renal. Así mismo se observaron toxicidades asociadas al vehículo utilizado, a efectos inespecíficos y especialmente a respuestas inmunes por su naturaleza al estar constituidos por ARN. Estos problemas aconsejaron que se utilizaran básicamente para retinitis, ya que el ojo permite una aplicación local fácil y presenta una menor vascularización.

En la actualidad se ha avanzado en métodos de vehiculización para aplicación terapéutica en el tejido hepático, liderados por Alnylam, y se encuentran en curso unos veinte ensayos clínicos que valoran la posible utilización de ARNs de interferencia contra diferentes dianas como por ejemplo el VEGF, VEGFR1, HIF-1, p53, RRM2 y BCL-2 entre otros (8).

5. Oligonucleótidos como competidores

Como un reactivo de biología molecular, los oligonucleótidos de ADN en forma de doble cadena se utilizan como sondas moleculares para investigar zonas de unión del ADN a proteínas que regulen la expresión génica, como por ejemplo los factores de transcripción que se unen a los promotores de los genes celulares. Con esta misma orientación se utilizan como competidores de zonas de unión de factores reguladores de transcripción o de factores de acoplamiento del RNA (decoys) (9).

6. Oligonucleótidos como anticuerpos

Por otra parte, los oligonucleótidos, debido a su conformación dependiente de sus secuencias, pueden unirse a prácticamente cualquier ligando, en este caso se les denomina aptámeros y funcionan como si fuesen anticuerpos, pero que están formados por polímeros de ácidos nucleicos en lugar de aminoácidos.

Macugen, también denominado Pegaptanib, es un aptámero desarrollado contra el VEGF mediante la estrategia de SELEX (*systematic evolution of ligands by exponential enrichment*), inventada por Craig Tuerk & Larry Gold (10).

7. Vehiculitzación

Una gran parte de los oligonucleótidos antisentido entran en la célula por endocitosis y se acumulan en los endosomas de los cuales han de escapar para pasar al citosol. Lípidos y polímeros se utilizan para vehiculizar y desestabilizar la membrana y la barrera que forman alterando el pH endosomal.

Existen diferentes metodologías para facilitar la vehiculización de los oligonucleótidos terapéuticos, que incluyen el uso de nanopartículas lipídicas, poliméricas, conjugados, péptidos, aptámeros y anticuerpos, entre otras, así como nanoestructuras de ADN.

En el caso de los anticuerpos, los oligonucleótidos antisentido se pueden vehiculizar mediante inmunoliposomas, como el que se desarrolló utilizando un antisentido contra la DHFR, diana del ataque con Metotrexate (11) dirigido contra células de cáncer de mama que sobre expresen la proteína HER2 (12).

8. Enlaces de Hoogsteen: TFOs y PPRHs

Todos los oligonucleótidos citados anteriormente se unen a sus dianas mediante los clásicos enlaces de Watson : Crick. Así mismo, existen otros tipos de enlaces por puentes de hidrógeno que unen bases del ADN de una manera no convencional -por ejemplo, en el caso de purinas, una A se puede unir con otra A y una G con otra G-, y que se denominan enlaces de Hoogsteen. Fueron descubiertos por Karst Hoogsteen, un bioquímico nacido en Groningen en 1923, que emigró a los EEUU y colaboró con Linus Pauling en Caltech, donde demostró, en 1959, la existencia de estos enlaces alternativos (13), posteriormente trabajó en Merck, Sharp and Dohme. Las características de este tipo de enlace

Hoogsteen hace que las cadenas de ácidos nucleicos se puedan unir a “duplex” para formar “triplex” como el que forman los TFOs (Triplex forming oligonucleotides) e incluso “quatriplex” (G-quadruplexes).

Los TFOs están constituidos por una cadena sencilla de DNA que se une por Hoogsteen a dos cadenas que están formando un dúplex mediante W: C y se han utilizado para inhibir la unión de factores de transcripción. Un ejemplo de ello son los TFOs dirigidos contra los genes neu y c-myc como herramientas terapéuticas en cáncer de mama y de colon (14).

Por otra parte, las pinzas de polipurinas o PPRHs (PolyPurine Reverse Hoogsteen) son dúplex o horquillas intramoleculares de polipurinas formadas por enlaces de Hoogsteen, que pueden formar un triplex con las cadenas de polipirimidinas del DNA genómico a pH fisiológico, desplazan la cuarta cadena del ADN (15), de forma que se abre el DNA genómico y se inhibe la transcripción o el acoplamiento del ARN (16, 17) y consecuentemente la expresión génica. Los PPRHs se han ensayado contra genes de proliferación y cáncer como por ejemplo telomerasa, topoisomerasa, mdm2, myc, mTOR, incluyendo genes antiapoptóticos como Bcl-2 y survivina (18,19) y genes involucrados en inmunoterapia como SIRP-alfa y CD47 (20). En todos los casos, los PPRHs han demostrado una gran eficiencia tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo*, como se pudo determinar en un modelo de xenograft de células de cáncer de próstata y que constituyó la prueba de principio de estas moléculas. Los PPRHs presentan una eficiencia diez veces superior a la de los oligonucleótidos antisentido y funcionan en un margen de concentración similar al de los ARNpis sin inducir inmunogenicidad (21). Su estabilidad es diez veces superior a la de los ARNpis y con un coste económico diez veces inferior, y su afinidad es superior a 1 de los TFOs (22).

9. Futuro de los Oligonucleótidos

Se espera un futuro optimista teniendo en cuenta el desarrollo, que se ha producido durante los últimos treinta años, de diferentes tipos de moléculas con capacidad silenciadora de la expresión génica: antisentidos, ARNpis, aptámeros, TFOs, PPRHs, con los que se ha avanzado en especificidad, estabilidad y disminución de la inmunogenicidad.

El reto está en una vehiculización óptima de este tipo de moléculas, tanto para la entrada a las células, la orientación específico-tisular, como para la liberación de los oligonucleótidos a nivel intracelular para que puedan ejercer su acción en la diana terapéutica seleccionada.

Bibliografía

- (1) de Smet MD, Meenken C, van den Horn GJ: **Fomivirsen – a phosphorothioate oligonucleotide for the treatment of CMV retinitis.** *Ocul Immunol Inflamm* 1999, **7**:189–198.
- (2) Roehr B: **Fomivirsen approved for CMV retinitis.** *J Int Assoc Physicians AIDS Care* 1998, **4**:14–6.
- (3) Furtado JD, Wedel MK, Sacks FM: **Antisense inhibition of apoB synthesis with mipomersen reduces plasma apoC-III and apoC-III-containing lipoproteins.** *J Lipid Res* 2012, **53**:784–791.
- (4) Janssen HLA, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, van der Meer AJ, Patick AK, Chen A, Zhou Y, Persson R, King BD, Kauppinen S, Levin AA, Hodges MR: **Treatment of HCV Infection by Targeting MicroRNA.** *N Engl J Med* 2013, **368**:1685–1694.
- (5) Cirak S, Arechavala-Gomeza V, Guglieri M, Feng L, Torelli S, Anthony K, Abbs S, Garralda ME, Bourke J, Wells DJ, Dickson G, Wood MJ, Wilton SD, Straub V, Kole R, Shrewsbury SB, Sewry C, Morgan JE, Bushby K, Muntoni F: **Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: An open-label, phase 2, dose-escalation study.** *Lancet* 2011, **378**:595–605.
- (6) van Deutekom JC, Janson AA, Ginjaar IB, Frankhuizen WS, Aartsma-Rus A, Bremmer-Bout M, den Dunnen JT, Koop K, van der Kooi AJ, Goemans NM, de Kimpe SJ, Ekhart PF, Venneker EH, Plattenburg GJ, Verschueren JJ, van Ommen G-JB: **Local Dystrophin Restoration with Antisense Oligonucleotide PRO051.** *N Engl J Med* 2007, **357**:2677–2686.
- (7) Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, Iannaccone ST, Montes J,

- De Vivo DC, Norris DA, Bennett CF, Bishop KM: **Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMN Rx) in children with spinal muscular atrophy.** *Neurology* 2016, **86**:890–897.
- (8) Crooke ST, Witztum JL, Bennett CF, Baker BF: **RNA-Targeted Therapeutics.** *Cell Metabolism* 2018;714–739.
- (9) Klein JD, Sano D, Sen M, Myers JN, Grandis JR, Kim S: **STAT3 oligonucleotide inhibits tumor angiogenesis in preclinical models of squamous cell carcinoma.** *PLoS One* 2014, **9**.
- (10) Tuerk C, Gold L: **Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase.** *Science* 1990, **249**:505–510.
- (11) Rodríguez M, Noé V, Alemany C, Miralles A, Bemi V, Caragol I, Ciudad CJ: **Effects of anti-sense oligonucleotides directed toward dihydrofolate reductase RNA in mammalian cultured cells.** *Int J Cancer* 1999, **81**:785–92.
- (12) Rodríguez M, Coma S, Noé V, Ciudad CJ: **Development and effects of immunoliposomes carrying an antisense oligonucleotide against DHFR RNA and directed toward human breast cancer cells overexpressing HER2.** *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 2002, **12**:311–25.
- (13) Hoogsteen K: **The crystal and molecular structure of a hydrogen-bonded complex between 1-methylthymine and 9-methyladenine.** *Acta Crystallogr* 1963, **16**:907–916.
- (14) Boulware SB, Christensen LA, Thames H, Coghlan L, Vasquez KM, Finch RA: **Triplex-forming oligonucleotides targeting c-MYC potentiate the anti-tumor activity of gemcitabine in a mouse model of human cancer.** *Mol Carcinog* 2014, **53**:744–752.
- (15) Coma S, Noé V, Eritja R, Ciudad CJ: **Strand displacement of double-stranded DNA by triplex-forming antiparallel purine-hairpins.** *Oligonucleotides* 2005, **15**:269–83.
- (16) de Almagro MC, Coma S, Noé V, Ciudad CJ: **Polypurine hairpins directed against the template strand of DNA knock down the expression of mammalian genes.** *J Biol Chem* 2009, **284**.
- (17) de Almagro MC, Selga E, Thibaut R, Porte C, Noé V, Ciudad CJ: **UDP-glucuronosyltransferase 1A6 overexpression in breast**

- cancer cells resistant to methotrexate.** *Biochem Pharmacol* 2011, **81**:60–70.
- (18) Rodríguez L, Villalobos X, Dakhel S, Padilla L, Hervas R, Hernández JL, Ciudad CJ, Noé V: **Polypurine reverse Hoogsteen hairpins as a gene therapy tool against survivin in human prostate cancer PC3 cells in vitro and in vivo.** *Biochem Pharmacol* 2013, **86**.
- (19) Villalobos X, Rodríguez L, Solé A, Lliberós C, Mencia N, Ciudad CJ, Noé V: **Effect of polypurine reverse hoogsteen hairpins on relevant cancer target genes in different human cell lines.** *Nucleic Acid Ther* 2015, **25**.
- (20) Bener G, Félix AJ, Sánchez de Diego C, Pascual Fabregat I, Ciudad CJ, Noé V: **Silencing of CD47 and SIRP α by Polypurine reverse Hoogsteen hairpins to promote MCF-7 breast cancer cells death by PMA-differentiated THP-1 cells.** *BMC Immunol* 2016, **17**.
- (21) Villalobos X, Rodríguez L, Prévot J, Oleaga C, Ciudad CJ, Noé V: **Stability and immunogenicity properties of the gene-silencing polypurine reverse hoogsteen hairpins.** *Mol Pharm* 2014, **11**.
- (22) Rodríguez L, Villalobos X, Solé A, Lliberós C, Ciudad CJ, Noé V: **Improved design of PPRHs for gene silencing.** *Mol Pharm* 2015, **12**.

7.5. Nanotecnologías

Xavier Fernández

La nanotecnología abarca un amplio abanico de técnicas y métodos para manipular y utilizar estructuras a escala nanométrica. Un nanómetro es la *millonésima parte de un milímetro* y es la escala con la que medimos el tamaño de las moléculas. Uno de los objetivos de la nanotecnología es el desarrollo de nuevos materiales y elementos funcionales mediante el control de su tamaño y forma (1). Los nanomateriales similares en tamaño a moléculas y sistemas biológicos pueden tener más resistencia, menor peso, un mejor control del espectro luminoso, una elevada relación superficie/volumen y una reactividad química mayor que la de sus equivalentes de tamaño superior (2). La nanotecnología es una de las áreas de la ciencia con una evolución más rápida, en la última década ha hecho un salto desde un campo relativamente pequeño a una revolución científica e industrial de ámbito global. Dado que la función biológica depende en gran medida de elementos de dimensiones nanométricas, las herramientas en la nanoescala son suficientemente pequeños como para interaccionar directamente; ello ha conducido a la invención de nuevas tecnologías biológicas, como los nanobiosensores de molécula única, el diagnóstico de alta resolución, los sistemas vectorizados para liberación de fármacos, o sondas para bioimagen. Por otra parte, la nanotecnología también produce dudas sobre una potencial toxicidad y el posible impacto ambiental de los nuevos nanomateriales. La nanotoxicología es una disciplina emergente, por ello los aspectos dinámicos y la toxicidad *in vivo* de muchos nanomateriales no son aún bien conocidos (3). Un mejor conocimiento de las implicaciones toxicológicas de los nuevos nanomateriales es un factor imprescindible debido a las enormes posibilidades de aplicación de la nanotecnología en medicina. Las agencias reguladoras están elaborando normativas que aseguren una transferencia segura de los nuevos avances nanotecnológicos del laboratorio a la práctica clínica.

La nanomedicina la podemos definir como la aplicación de la nanotecnología a la práctica médica, y está definida por la Fundación Europea de la Ciencia como (4): “La nanomedicina utiliza herramientas de ta-

maño nanométrico para el diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades así como para incrementar el conocimiento de sus complejas patofisiologías. El objetivo final es la mejora de la calidad de vida". Podemos distinguir en este campo tres áreas:

1. Sensores y herramientas para el diagnóstico y la imagen utilizadas fuera del paciente. Para estas aplicaciones, la nanotecnología se utiliza para crear nuevos equipos para diagnóstico con una sensibilidad superior que los actuales, con un costo inferior, dimensiones más pequeñas o un mayor procesamiento.
2. Tecnologías innovadoras y nuevos nanomateriales para ingeniería de tejidos y para promover la reparación de órganos. Estas aplicaciones suelen requerir exclusivamente manipulaciones *ex vivo*, y tienen como objetivo el desarrollo de substitutos biocompatibles que reparen, mantengan o mejoren la función de los tejidos y órganos.
3. Sistemas de liberación de fármacos, en este caso el objetivo es la aplicación de la nanotecnología (frecuentemente en combinación con la terapia celular) en la mejora de los métodos de administración de productos farmacéuticos, a fin de obtener un efecto preventivo o terapéutico mejorado.

A corto plazo, la nanomedicina aportará avances en el descubrimiento de nuevas medicinas, su liberación eficiente y procesos analíticos y de diagnóstico. Existe un número creciente de herramientas para la imagen i para la liberación de fármacos basadas en sistemas nanométricos, mientras que la proliferación de métodos para el análisis de moléculas individuales y los avances en la tecnología de biosensores de base nanotecnológica representan oportunidades inmensas para revolucionar el diagnóstico en el ámbito de la atención sanitaria. A más largo plazo, los retos de la medicina son ambiciosos, incluyendo, como ejemplo, biosensores acoplados a sistemas de liberación que combinaran el diagnóstico *in vivo* con una terapia focalizada (*teranosi*) (5), y tecnologías de imagen diseñadas con nano herramientas analíticas no invasivas, que proporcionaran una elevada reproductibilidad, sensibilidad y fiabilidad en la detección simultánea de varios marcadores biomoleculares para su utilización en el tratamiento de enfermedades, antes de la aparición de los síntomas.

Finalmente, la nanotecnología está realizando una tímida aparición en el campo de la lucha contra las enfermedades infecciosas en forma de nuevas herramientas para el diagnóstico, nanobiosensores y, principalmente, estrategias de liberación dirigida de agentes antimicrobianos, aunque de manera inminente podremos disponer, posiblemente, de aplicaciones de nanoimagen y uso de nanopartículas en estrategias de vacunación que mejoren la función del sistema inmunitario.

Bibliografía

- (1) Wilson, M.; Kannangara, K.; Smith, G.; Simmons, M.; Raguse, B. *Nanotechnology: Basic Science and Emerging Technologies*; Chapman & Hall, CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2002.
- (2) Vollath, D. *Nanomaterials: An Introduction to Synthesis, Properties and Applications.*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2008.
- (3) Maynard, A. D.; Warheit, D. B.; Philbert, M. A. The new toxicology of sophisticated materials: nanotoxicology and beyond. *Toxicol. Sci.* 2011, 120 (suppl 1), S109-S129.
- (4) European Science Fundation: ESF Forward Look on Nanomedicine 2005 <http://www.nanopharmaceuticals.org/files/nanomedicine.pdf>, Internet Communication 2005.
- (5) Madadi, P.; Enato, E. F.; Walfisch, A. “Actionable theranostics for global maternal health: a focus on HIV and malaria”. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2012, 12 (8), 831-840.

