# LA BIOTECNOLOGIA FARMACÈUTICA EN EL TRACTAMENT DEL CÀNCER

DISCURS
Llegit en l'acte de recepció de l'Acadèmic Numerari electe

**Molt Il·lustre Dr. Jaume Piulats Xancó**

Celebrat el dia 12 de setembre de 2007

DISCURS DE CONTESTACIÓ
A càrrec de l'Acadèmic Numerari

**Molt Il·ltre. Dr. Pere Berga Martí**

Barcelona
2007

*L'Acadèmia no es fa solidària de les opinions que s'exposen en les publicacions de les que és responsable l'autor.*

Dipòsit legal: B. 32.386-2007
ROMARGRAF, SA – Joventut, 55 - L'Hospitalet de Ll.

## ÍNDEX

Pròleg . . . . . 7

Bases científiques de la Biotecnologia Farmacèutica . . . . . 9

Anticossos Monoclonals per la Teràpia . . . . . 12

Citocines . . . . . 16

Vacunes de DNA . . . . . 18

El Laboratori de Bioinvestigació (LBI) en la recerca biotecnològica . . . . . 19

Consideracions Finals . . . . . 22

Bibliografia. . . . . 22

Discurs de contestació de l'Acadèmic Numerari Molt Il·ltre. Dr. Pere Berga Martí. . . . . 25

*Excel·lentíssim Sr. President*
*Molt Il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics*
*Senyores i Senyors,*

En iniciar aquest discurs de recepció, com acadèmic numerari de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, vull que les meves primeres paraules siguin d'agraïment sincer a tots els membres d'aquesta prestigiosa institució per l'honor que m'han atorgat i la confiança que han dipositat en la meva persona. Especialment vull expressar la gratitud que sento cap als Acadèmics Dr. Pere Berga, Dr. Josep Cemeli i Dr. J.M Suñé, que presentaren la proposta del meu ingrés. Amb tots ells m'uneix una relació professional: amb el Dr. Berga per la nostra interacció com farmacòlegs en la indústria farmacèutica, amb el Dr. Cemeli com a professor en la meva època d'estudiant i, més tard, tant amb el Dr. Cemeli com amb el Dr. Suñé com a companys en les tasques docents de la Facultat de Farmàcia de la nostra ciutat. A tots ells el meu reconeixement pel seu suport.

Segurament, jo no estaria aquí avui, si no fos per la trajectòria professional que em va oferir l'empresa farmacèutica Merck Farma y Química SA, inicialment per formar part del Laboratorio de Bioinvestigación (LBI) i, més tard, a partir de 1986, per dirigir-lo. Conseqüentment, el meu sentiment és el de representar aquí a tots els professionals que durant els darrers trenta-tres anys m'han acompanyat en la recerca de nous agents terapèutics, especialment en l'àrea de la teràpia oncològica. Davant l'òbvia impossibilitat de citar individualment a tants companys i amics voldria que tots ells sentissin que l'honor que representa la meva

presència avui en aquesta institució, és un honor que comparteixo amb tots. Sincerament així ho crec. Gràcies a tots ells.

En aquest apartat d'agraïments no voldria oblidar una figura essencial en la formació de qualsevol persona: el mestre. Els mestres a l'escola, a l'institut, a la universitat, a l'empresa, i molts altres professionals que pacientment van dissenyant l'estimació per l'estudi, l'amor pels llibres i per una professió. Avui, en aspirar a rebre la medalla núm.3 d'aquesta Acadèmia, la qual va pertànyer al Dr. Ramon San Martín Casamada, professor meu a la Facultat, voldria recordar la seva figura i el seu paper en el món de la farmàcia catalana. De fet, aquesta Acadèmia el va recordar a propòsit del seu traspàs, esdevingut el 5 de gener de 2006. Els Drs. Miquel Ylla-Català, Joan Sabater i Jacint Corbella van dedicar unes sentides paraules en la sessió pública in memoriam del dia 27 de març de 2006. Aquell dia va quedar clar el paper determinant del Dr. San Martín en la consecució de la nova Facultat a Pedralbes, així com en la creació de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Barcelona. El seu compromís amb la Universitat i amb la professió farmacèutica va ser total, impulsant el paper internacional de la farmàcia catalana en una època de portes tancades. Per tot això, vull dedicar un record respectuós a la seva persona.

Finalment, permeteu-me que els agraïments arribin als meus, a la meva dona i a la meva filla, ambdues farmacèutiques, i als meus pares, que malauradament vaig perdre fa molts anys: el seu suport ha estat essencial en la consecució dels meus somnis.

## PRÓLEG

Tenint en compte que ens trobem en el si de la Real Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, crec que a cap dels presents els estranyarà si afirmo amb rotunditat que el farmacèutic és l'especialista del medicament. I que conseqüentment cap patologia escapa de l'interès de la Farmàcia. El càncer no és una excepció. Al llarg del segle XX la comunitat científica va saber aportar descobriments significatius sobre la biologia de la cèl·lula neoplàsica que ens van permetre el disseny de nous fàrmacs citotòxics. L'aprenentatge sobre el seu ús i limitacions ha configurat l'actual Quimioteràpia. L'ús correcte ha permès grans èxits, però encara és evident que hem de recórrer un llarg camí per poder oferir a la nostra comunitat, als nostres pacients, una millora substancial en el control de la malaltia neoplàsica.

Al darrer quart del passat segle XX, va sorgir amb força i amb gran polèmica, una nova via, una nova eina per a l'abordatge farmacològic i farmacèutic del càncer. Em refereixo a la Biotecnologia. M'atreviria a afirmar que aquesta disciplina és conseqüència del desenvolupament paral·lel d'altres dues: La Immunologia i la Biologia Molecular.

L'objectiu que m'he proposat per aquest discurs és descriure l'inici i evolució de la Biotecnologia Farmacèutica en el camp específic de l'Oncologia.

La meva vida professional es va iniciar al 1971, després de la corresponent formació a la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona i del pas obligatori llavors per les files de l'exèrcit. Vaig publicar amb el Dr. J.M. Castellanos, farmacèutic, el meu primer treball el 1970, en la revista espanyola *Laboratorio* (1).

Un mètode volumètric i un reactiu de la firma Merck em van permetre llavors posar a punt un mètode de valoració del calci en sang que va facilitar als metges i cirurgians decidir amb més fiabilitat el tractament que calia seguir en els casos d'hipercalcèmia. Però va ser el 1971, en el meu primer dia de feina als Laboratoris Carlo Erba, que em va impressionar un article del Prof. Dumonde sobre l'alliberament de limfocines i la seva activitat biològica com potencial eina d'utilitat terapèutica (2) (3).

En aquells anys, les limfocines, o en general citocines, no eren encara proteïnes caracteritzades bioquímicament, sinó que els investigadors les citaven com a factors alliberats per les cèl·lules que presentaven una determinada activitat biològica. Així, per exemple, es denominava MAF al Factor Activador de Macròfags o PAF al Factor Activador de Plaquetes. Aquesta incapacitat inicial del món científic per aïllar, purificar i caracteritzar aquests "factors" va motivar que la comunitat científica es dividís en propulsors o escèptics davant la contínua presentació de factors. Fet i fet, molts van arribar a pensar que es tractava, en realitat, "d'artefactes" a causa d'errors de procediment.

La Biologia Molecular va posar pau entre ambdós bàndols, ja que va permetre l'aïllament, producció i purificació d'aquells "factors", i així va confirmar que les cèl·lules (i en especial els limfòcits circulants) alliberaven unes glicoproteïnes que exerciien un paper primordial en la interacció cel·lular i en la homeostasi del nostre organisme. El mencionat Prof. Dumonde era, en aquells anys, una autoritat científica sobre "factors" limfocitaris. Recordo que vam passejar per Barcelona amb el meu 600: ell va viure una experiència automobilística única i jo vaig aprendre les bases d'una especialitat, la biotecnologia, que mereixia en la meva opinió una dedicació total.

Permetin-me, doncs, que resumeixi en els pròxims minuts aquests últims 30 anys de desenvolupament biotecnològic i la seva aplicació específica en el tractament del càncer.

# LA BIOTECNOLOGIA EN EL TRACTAMENT DEL CÀNCER

## Bases científiques de la Biotecnologia Farmacèutica

Tal com hem comentat a l'inici d'aquest discurs, la Biotecnologia es recolza en el progrés paral·lel de dues disciplines: La Immunologia i la Biologia Molecular. Per això el nostre primer objectiu serà revisar el paper d'ambdues en el naixement i consolidació de la Biotecnologia.

En la meva labor docent com a professor associat d'Immunologia a la nostra Facultat de Farmàcia, acostumo a insistir als estudiants amb una idea bàsica: existeixen molt pocs fàrmacs que indueixin la curació real d'un procés patològic. Possiblement, els corticoides i els antibiòtics poden presumir d'això però la gran part d'agents terapèutics exerceixen un efecte sobre les manifestacions de la malaltia però no sobre el procés causal. Tanmateix existeix un grup de fàrmacs que mereixen una consideració especial, ja que no només són capaços de prevenir una malaltia sinó que, en alguns casos, han induït la seva total eradicació en àmplies zones geogràfiques: em refereixo, naturalment, a les vacunes.

La introducció el 1796 per Jenner del concepte preventiu davant la malaltia infecciosa va representar l'inici d'una brillant trajectòria en què científics com Pasteur, Koch, Salk i Ferran van deixar constància d'una de les fites de la medicina moderna. Tots ells van modernitzar i expandir una pràctica que ja era coneguda, encara que empíricament, pels cuidadors del bestiar boví a la

Xina en el segle XI. Els camperols xinesos inhalaven pols de les crostes de verola vacuna com element protector davant de la malaltia. Segles més tard, el primer món va poder eradicar malalties com la verola basant-se en els mateixos principis preventius. Els moderns programes d'immunització infantil han aconseguit un dels èxits més espectaculars de la medicina. Aquest èxit posava de manifest l'enorme potencialitat dels mecanismes immunes per controlar patologies molt diverses. Per això era totalment necessari conèixer els aspectes cel·lulars i moleculars amb què treballa el sistema immune. El segle XX ha proporcionat grans avanços en el seus coneixements. Avui sabem que el sistema immune, com a sistema defensiu del nostre organisme davant qualsevol element estrany, depèn d'una bona comunicació entre tres tipus cel·lulars: els limfòcits B, els limfòcits T i les cèl·lules presentadores d'antígens. La seva intercomunicació s'estableix, fonamentalment, a través d'unes glicoproteïnes denominades citocines, que són alliberades al medi ambient per aquelles cèl·lules. Aquest diàleg cel·lular i molecular és fonamental per entendre no sols el sistema immune, sinó també la base científica de la biotecnologia actual.

Quan un element estrany o antígen ingressa en el nostre organisme, les cèl·lules B i T poden reconèixer la seva presència utilitzant diferents mecanismes cel·lulars. Així els limfòcits B disposen en la seva membrana d'unes proteïnes complexes, les immunoglobulines, que poden reconèixer milions d'estructures diferents. La unió entre l'antigen i la immunoglobulina s'estableix a través de les denominades regions hipervariables o regions determinants de la complementarietat (CDR) de la immunoglobulina. Aquestes regions abracen l'antigen i quan millor sigui la complementarietat estructural entre antigen i immunoglobulina direm que l'especificitat i afinitat és millor. Si aquesta complementarietat fos nul·la o pobra, l'antigen seguiria mantenint contactes amb altres cèl·lules B, fins a trobar la seva complementària.

En altres paraules, un antigen trobarà el seu limfòcit B específic quan aquell s'acobli perfectament a l'espai format pels 6

CDR, com una pilota de tenis pot ser abraçada per 3 dits de cada una de les nostres mans. Aquesta interacció molecular donarà lloc a l'activació de la cèl·lula B, que proliferarà i iniciarà la producció masiva d'immunoglobulines, que ara seran alliberades al medi en lloc de romandre adherides a la membrana i conservaran l'especificitat inicial davant aquell antigen. Aquesta producció d'immunoglobulines representa el primer nivell de defensa del nostre organisme. Una subpoblació de cèl·lules B, les denominades cèl·lules de memòria, conservaran el record d'aquell contacte i si aquest es produeix, de nou les cèl·lules B iniciaran la síntesi i alliberament del mateix tipus d'immunoglobulina. En definitiva, immunoglobulines i cèl·lules de memòria constitueixen la base científica del tractament amb vacunes.

D'altra banda, els limfòcits T no disposen d'aquell sistema de reconeixement antigènic. Necessiten del concurs d'un tercer tipus cel·lular, les cèl·lules presentadores d'antigen. Aquestes metabolitzen els antigens i els pèptids resultants són expressats de nou a la membrana cel·lular amb el concurs de les denominades molècules del complex major d'histocompatiblitat (MHC). Aquesta associació entre el pèptid antigènic i les molècules del sistema d'histocompatiblitat és el que veu el limfòcit T a través d'una altra molècula de membrana, el receptor de cèl·lula T; el contacte físic entre ambdues cèl·lules facilitarà el reconeixement i s'iniciarà així el procés d'activació dels limfòcits T; el resultat final serà l'alliberació d'unes glicoproteïnes que denominem limfocines que seran les responsables de coordinar la resposta immune, modulant no sols l'activitat de les cèl·lules T sinó també afavorint el funcionament de les B (4).

De tot el que portem dit podem treure la conclusió que immunoglobulines i limfocines són els principals mediadors de la resposta immune i, per tant, si volem mimetitzar la seva capacitat de defensa és lògic que es converteixin en l'objectiu principal pel disseny de noves teràpies. Per tant, revisarem el paper que juguen en la teràpia actual els anticossos monoclonals i citocines, per fi-

nalment, fer esment d'una àrea de futur: les vacunes terapèutiques de DNA.

## Anticossos Monoclonals per la Teràpia

En l'apartat anterior hem vist que les immunoglobulines o anticossos produïts per la cèl·lula B o cèl·lula plasmàtica, eren un element essencial en els processos de defensa i que la seva inducció mitjançant immunització era la base del tractament preventiu amb vacunes. En aquest tipus de tractament la inducció era activa, és a dir, que l'individu havia de fabricar les seves pròpies defenses després de la inducció antigènica. La qüestió era com aprofitar les propietats biològiques de les immunoglobulines, especificitat davant l'antigen i capacitat bloquejant o citotòxica, segons la subclasse o isotip d'immunoglobulina, en favor d'una teràpia altament específica. Lamentablement, la producció d'immunoglobulines era un procés complex que requeria la immunització d'animals i la recuperació de la immunoglobulina a partir del sèrum dels mateixos. Aquest procés tediós i ineficient va passar a la història el 1975.

César Milstein, a les hores director del Departament d'Immunologia de la Universitat de Cambridge i el jove suís Koehler, postdoc al departament del primer, van publicar un breu i interessant article en el qual definien el mètode per obtenir al laboratori anticossos monoespecífics o anticossos monoclonals. Aquest treball va ser publicat a *Nature* al 1975 i va representar l'inici formal de l'era biotecnològica per a la Medicina i la Farmàcia (5).

Milstein i Koehler van fusionar limfòcits B, procedents de la melsa de ratolins immunitzats amb la proteïna d'interès, amb una cèl·lula de mieloma, és a dir, una cèl·lula neoplàsica, donant lloc a una nova cèl·lula denominada hibridoma, 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. Els estalviaré els detalls tècnics sobre el procés, però assenyalaré que el clonatge final de l'hibridoma és la última etapa d'una tècnica que ens permet conservar, sota congelació, una nova entitat cel·lular, l'hibridoma, capaç de produir l'anticòs desitjat.

La feina de Milstein i Koehler va donar ales al naixement d'una nova indústria farmacèutica: les empreses biotecnològiques que a partir de la dècada dels vuitanta, inicien el seu recorregut als Estats Units. El 1984, Milstein i Koehler van rebre el Premi Nobel de Medicina.

Els primers anticossos monoclonals que van arribar a l'oficina de Farmàcia eren reactius per a les proves d'embaràs; enrere quedaven les proves de floculació o l'antiga prova amb granotes de la dècada dels 60 i 70. A Barcelona un dels primers grups en utilitzar la tècnica d'obtenció de monoclonals va ser el Dpt. d'Immunologia de l'Hospital Clínic, el laboratori del Dr. Ramon Vilella va produir una magnífica col·lecció d'anticossos que va permetre la identificació d'un bon nombre de molècules leucocitàries, els denominats *clusters de diferenciació* o CDs de gran utilitat diagnòstica en el camp del trasplantament.

En el camp del diagnòstic, la utilització de les eines biotecnològiques va ser molt ràpida, però en el camp de la teràpia persistien limitants problemes tècnics. Un exemple es refereix al problema d'immunogenicitat dels anticossos monoclonals com a agents terapèutics. La tècnica del Milstein i Koehler partia de la immunització de ratolins i, per tant, la proteïna final del procés, l'anticòs monoclonal, era una proteïna murina. Això no representava cap problema quan volien utilitzar l'anticòs com a reactiu de diagnòstic, però en el camp terapèutic s'enfrontava a un greu problema. La proteïna murina era vista com quelcom estrany pel sistema immune del pacient tractat amb el monoclonal, i aquest sistema immune reaccionava, com era d'esperar, produint ell mateix anticossos que bloquejaven aquelles proteï-

nes foranies. En definitiva, el pacient reaccionava negativament davant la teràpia biològica, fent servir els seus propis sistemes de defensa.

Aquest problema era viscut per la ciència bàsica i la clínica a finals de la dècada dels 80. Al Laboratorio de Bioinvestigación ens vam involucrar en el problema amb una intensa col·laboració amb una unitat de l'Institut Salk a La Jolla (Califòrnia, USA). Preteníem dos objectius: primer, el laboratori americà tractaria d'obtenir una cèl·lula humana del tipus mieloma que fos capaç de fusionar-se amb un limfòcit B immunitzat *in vitro*; i, en segon lloc, en una darrera fase, la nostra responsabilitat a Barcelona seria trobar una metodologia que permetés la immunització de les cèl·lules B humanes. La fusió d'ambdues cèl·lules ens hauria de donar un hibridoma humà que produís anticossos directament humans i obviés els problemes dels anticossos d'origen murí.

El resultat va ser que un laboratori de la universitat anglesa de Cambridge, dirigit pel Dr. Winter, se'ns va avançar i una vegada més l'emergent biologia molecular va poder solucionar elegantment el problema (6) (7).

L'inici de la dècada dels 90 va ser difícil per la biotecnologia: els assajos clínics amb monoclonals no mostraven els resultats esperats i la indústria passava per una crisi important, que, almenys a Europa, es va materialitzar amb l'aturada de molts projectes. Mentre a Barcelona gaudíem d'uns magnífics Jocs Olímpics al 1992, la indústria farmacèutica patia una crisi de seguretat davant les noves tecnologies.

Aquesta situació va donar pas a partir de 1994 a una nova etapa científica, sota l'impuls de la genòmica, que perseguia com a objectiu la recerca de dianes terapèutiques específiques. La utilització d'anticossos monoclonals quimèrics (és a dir, proteïnes mixtes murí-humà) o humanitzats va començar a donar resultats clínics molt positius.

Així vam assistir, en el període 1997-1998, a l'aprovació per part de les autoritats sanitàries d'un bon nombre d'anticossos monoclonals com, per exemple, el Rituximab (Rituxan) que reconeix la molècula CD20 dels limfòcits B pel tractament del limfoma no Hodgkin; o el Trastuzumab (Herceptin) anticòs anti-HER 2 indicat en la teràpia del càncer de pit metastàsic.

A la mateixa època van ser també aprovats monoclonals per indicacions diverses no oncològiques; en destacaríem l'Infliximab (Remicade), un anticòs anti-TNFα indicat en el tractament de l'Artritis Reumatoide.

Durant el període 2000-2002, la FDA va aprovar nous monoclonals per a neoplàsies hematològiques, el Gentuzumab (anti-CD33) per a la leucèmia mielogènica aguda, el Alemzutumab (anti-CD52) per a la leucèmia limfocítica crònica i l'Ibritumomab (anti-CD20) per al limfoma no-Hodgkin.

Recentment dos nous anticossos monoclonals han estat aprovats per les autoritats sanitàries europees i nord-americanes. Es tracta dels anticossos Bevacizumab (Avastin) de Genentec, que bloqueja el factor VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor o Factor de creixement de l'endoteli vascular), i el Cetuximab (Erbitux) d'Imclone/Merck KGaA, que reconeix el EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor o Receptor del Factor de Creixement Epidèrmic). Aquests dos últims agents representen, a nivell farmacològic, dos mecanismes d'acció diferents per inhibir el procés angiogènic tumoral: el primer bloqueja un dels factors tumorals més rellevants, el VEGF, com a inductor de l'activació de la cèl·lula endotelial; el segon actua sobre el receptor d'un altre factor proangiogènic, l'EGF, induint així una inhibició del procés angiogènic tumoral. A més, el fet que el receptor de l'EGF també es trobi sobreexpressat en una àmplia gamma de tumors fa que el Cetuximab mostri una clara activitat anti-tumoral al costat de l'anti-angiogènica ja citada (8).

Actualment l'Avastin està indicat en càncer colorectal i càncer de pulmó, mentre que el Cetuximab o Erbitux està indicat en càncer colorectal i en els de cap i de coll (9). Aquestes indicacions es podran anar ampliant tan bon punt els assajos clínics en curs confirmin la seva activitat. Aquesta esperança en una àmplia utilització d'aquests fàrmacs es fonamenta en el fet que el seu mecanisme d'acció és antiangiogènic, fenomen que acompanya a tot tipus de proliferació neoplàsica. Dit amb unes altres paraules, aquests dos anticossos monoclonals inicien la teràpia antiangiogènica en càncer.

En arribar a aquest punt del meu discurs, crec que haurà quedat clar que la dècada dels 80 va ser crucial pel desenvolupament de la biotecnologia en general i l'afiançament dels anticossos monoclonals com a noves eines terapèutiques per al tractament del càncer.

## Citocines

Paral·lelament al desenvolupament dels anticossos monoclonals, s'han fet molts esforços per desenvolupar limfocines o citocines d'acció antineoplàsica.

Un primer exemple es refereix a l'Interferó, una limfocina fisiològica que presentava unes activitats biològiques de gran interès, antiviral i antitumoral; per tant, la seva obtenció podria representar una revolució terapèutica. Aquest era el sentiment entre la comunitat científica de finals dels 70. El grup que millor va dissenyar un mètode per a la seva obtenció i purificació va ser el laboratori del Dr. Cantell al Banc de Sang de la ciutat d'Hèlsinki (10) (11). Obtenien l'interferó a partir de les cèl·lules sanguínies de la donació de sang, l'anomenat *buffy coat*; a Barcelona el Banc de Sang de la Creu Roja va voler participar en aquesta aventura biotecnològica i em va demanar dur a terme aquest projecte. Amb l'ajuda de dues científiques, l'estimada i

recordada Dra. Júlia Mas, experta en Hematologia, i la biòloga Blanca Rodés, que després d'una estada al laboratori de Cantell van estandarditzar el mètode d'obtenció d'interferó leucocitari a les instal·lacions de Creu Roja, l'antiga fàbrica de Merck i actualment una de les seus dels Mossos d'Esquadra a la nostra ciutat. Però aquest procés va ser fulminantment interromput per l'aparició d'una pandèmia, la SIDA. Els primers malalts a Europa van ser infectats per les transfusions de plasma procedents dels Estats Units. Conseqüentment, i davant la ignorància que teníem aleshores sobre la malaltia, es va prohibir l'ús de derivats sanguinis. Això succeïa a principis de la dècada dels 80. Afortunadament, el progrés de la biologia molecular i la metodologia del DNA-recombinant amb el descobriment clau dels enzims de restricció van permetre l'aïllament de la seqüència genètica que codificava per una proteïna específica. La transfecció d'aquesta seqüència a una cèl·lula de mamífer o a un bacteri va permetre la producció d'aquella proteïna per part de la cèl·lula transfectada. Així es va poder obtenir amb seguretat el desitjat interferó, avui ja en ús terapèutic, malgrat que restringit a determinats tipus de neoplàsies com la leucèmia de cèl·lules peludes o la leucèmia granulocítica crònica en el cas de l'interferó $\alpha$ i el melanoma metastàtic en l'interferó $\gamma$, o pel tractament de l'esclerosi múltiple amb interferó $\beta$-1a.

Un altre exemple és l'interleuquina 2 (IL-2), una de les limfocines més importants en el diàleg intercel·lular. Ha presentat greus problemes de toxicitat, de manera que avui el seu ús està restringit principalment al càncer renal. Per pal·liar els efectes tòxics d'aquestes proteïnes clonades s'investiguen vies de vehiculització fins al microambient tumoral per evitar efectes nocius sobre els teixits normals. Una d'aquestes vies és la construcció de proteïnes de fusió. Una vegada més, les tècniques de la biologia molecular ens permeten fer unes proteïnes híbrides formades per un monoclonal i una citocina. Aquí l'anticós monoclonal només fa el paper de vehicle per transportar la citocina fins el tumor, és a dir, que el monoclonal reconeix un antigen específic o sobre-

expressat del tumor. Això permetrà que amb la unió antigen-monoclonal la citocina actuï en l'entorn del teixit tumoral. Aquesta línia de recerca ja es troba en la fase d'assajos clínics (12).

Un altre exemple exitós de la biotecnologia, per a la teràpia del càncer, ha estat la possibilitat de clonar una citocina denominada GM-CSF o factor estimulant de colònies granulocits-macròfags. Aquesta citocina té en l'organisme la missió d'estimular la formació i maduració de les nostres cèl·lules hematopoietiques en el moll d'os. La seva obtenció biotecnològica n'ha permès l'ús terapèutic per promoure la recuperació cel·lular després del tractament quimioterapèutic convencional (13).

## Vacunes de DNA

En resum, monoclonals i citocines han estat el primer bloc d'aquests antineoplàsics d'origen biotecnològic. Què ens deparará el futur més proper? Per descomptat el desenvolupament i perfeccionament de les tecnologies citades i els protocols clínics d'utilització, però també es confia molt amb altra línia de treball representada per les vacunes de DNA. En aquest cas es tracta de vacunes terapèutiques, no preventives, que tindrien l'objectiu d'estimular el nostre sistema immune, principalment les respostes citolítiques mitjançades pels limfòcits Tc $CD8^+$ o T-citotòxics i les cèl·lules NK o "natural killer" Per assolir aquest objectiu es vacunaria amb el DNA d'un antígen tumoral, bé directament, com a DNA-nu, o bé immunitzant amb cèl·lules dendrítiques transfectades amb un plàsmid (DNA bacterià utilitzat com a vehicle de transfecció) que conté el DNA de l'antigen. La cèl·lula dendrítica produirà l'antigen a partir de la informació genètica facilitada pel DNA transfectat i això permetrà que l'antigen sigui presentat a les cèl·lules Tc, iniciant així la seva activació i capacitat citotòxica sobre les cèl·lules tumorals que expressen l'antigen escollit (14).

## El Laboratori de Bioinvestigació (LBI) en la recerca biotecnològica

Després d'aquesta panoràmica general de la biotecnologia, voldria dedicar els últims minuts d'aquest discurs assenyalant algunes línies de recerca molt properes al nostre grup de treball.

De fet, jo no estaria aquí recordant-los aquests esforços científics de la indústria farmacèutica i del mon acadèmic si no fos perquè la meva vida professional i científica va lligada al Laboratorio de Bioinvestigación de Merck Farma y Quimica, filial de l'empresa alemanya, laboratori pioner en l'àmbit industrial espanyol en la recerca de noves teràpies biotecnològiques per al tractament del càncer.

Entenc que l'honor que avui em dispensen per dirigir-me a vostès, és senzillament perquè, com a responsable d'aquest laboratori, sóc avui el portaveu d'uns professionals que al llarg d'uns trenta anys han posat els seus coneixements i la seva il·lusió en la millora del tractament del càncer. Com a reconeixement públic a la seva labor i amb la meva gratitud per fer-me costat i per donarme confiança i suport, durant aquesta llarga col·laboració, permeteu-me que dediqui unes línies a destacar els principals resultats d'aquest magnífic equip.

El Laboratorio de Bioinvestigación (LBI) de Merck va néixer el 1961 amb una clara mentalitat investigadora en l'àmbit biomèdic. En la seva primera etapa el Dr. B. von Schilling, patòleg, i el Dr. A. Núñez, fisiòleg i professor de la nostra Facultat de Farmàcia van desenvolupar projectes en les àrees de la Toxicologia i Teratogenia. El 1974, vam iniciar la posta a punt d'un departament de Farmacologia, sota els estàndards tècnics i científics de la indústria farmacèutica alemanya de l'època. L'experiència i tecnologia acumulada en aquests últims trenta anys, en el disseny d'estudis de farmacologia, ens ha permès aportar, a l'oncologia experimental, el punt de vista estrictament farmacològic. Avui,

l'anàlisi farmacològica dels nous agents antineoplàsics és una important eina per a la selecció de compostos al llarg del procés de descobriment d'un fàrmac.

L'any 1986 el Laboratorio de Bioinvestigación inicia els estudis d'oncologia a Merck.

Inicialment vam intentar obtenir anticossos monoclonals humans, tal com ja he comentat anteriorment amb una col·laboració amb el Institut Salk, paral·lelament produíem anticossos monoclonals murins en front d'antigens tumorals, com el gangliòsids, altament expressats en tumors d'origen neuroectodèrmic, com els melanomes i gliomes, o dissenyàvem vacunes amb antigens vehiculitzats per liposomes (15). També vam aprofundir en les denominades estratègies anti-sentit, és a dir, seqüències de nucleòtids complementaries a les del RNA missatger d'una proteïna que permetia bloquejar la seva producció per part de la cèl·lula (16). Moltes d'aquestes línies de treball van representar una aportació important en el coneixement de l'oncologia i es van traduir en magnífiques tesis doctorals dels meus col·laboradors. Però per motius comercials, tècnics o fins i tot en alguns casos, per ser excessivament pioners, no van arribar a traduir-se en productes d'ús terapèutic.

Cap al 1993 vam iniciar una fructífera col·laboració científica amb el Dr. David Cheresh de l'Institut Scripps (La Jolla, Califòrnia, USA). El projecte compartit aprofundia en els mecanismes de l'angiogènesi tumoral. Molts anys abans, el 1971, el Dr. Folkmann, professor de la Universitat de Harvard havia llançat la hipòtesi que el càncer es podia controlar si érem capaços d'inhibir la neoformació de vasos sanguinis al tumor, donada la dependència que un nou focus tumoral té per l'arribada de nutrients a través del corrent sanguini. Als inicis dels setanta els nostres coneixements sobre els mecanismes fisiològics de formació de vasos eren pràcticament nuls. Hem hagut d'esperar un quart de segle per tenir les eines primordials per estudiar en profunditat aquest procés (17) (18).

Dos anys més tard a l'inici del projecte el 1995, el nostre grup va publicar un treball que mostrava la obtenció d'un anticòs monoclonal que es va convertir, inicialment, en una eina de recerca fonamental i anys més tard en un nou agent terapèutic.

Així el resultat final d'aquella col·laboració va ser la definició d'una proteïna de la família de les molècules d'adhesió, les integrines, com a element bàsic en el procés d'activació i proliferació de la cèl·lula endotelial i conseqüentment com a nova diana terapèutica. Nosaltres vam abordar l'aplicació terapèutica d'aquests avanços i podem dir que recentment, el Febrer de 2007, s'han iniciat els assajos clínics amb el monoclonal obtingut i estudiat al nostre laboratori de Barcelona i citat anteriorment (19-26).

Aquest èxit va fer que el laboratori es convertís en el centre internacional de referència en angiogènesis pel grup Merck i es potenciés aquesta línia de treball. Des d'aleshores hem desenvolupat molts projectes de recerca antiangiogènica que han dut a descobriments bàsics de gran interès científic, com ara el paper de les proteïnes p16 i S100 en el procés angiogènic tumoral. Avui continuem en l'esforç per traduir aquests coneixements en fàrmacs (27) (28).

En tot aquest procés vam procurar mantenir una estreta col·laboració amb un bon nombre de grups acadèmics dedicats a la recerca del càncer, des de la Universitat de Barcelona al CSIC (Consell Superior d'Investigacions Científiques), l'IRO (Institut de Recerca Oncològica), l'ICO (Institut Català d'Oncologia), l'Institut Municipal de d'Investigació Mèdica (IMIM) i un llarg etcètera.

Desafortunadament és impossible citar totes les persones que han ajudat amb la seva professionalitat a pujar la categoria científica del LBI i a obtenir uns resultats i un prestigi per la institució. Però des d'aquestes últimes ratlles del meu discurs de nou agrairlos la seva feina perquè estic segur que quedarà marcada en els anals del desenvolupament científic de Catalunya.

## Consideracions Finals

Confio que aquesta revisió ràpida de la biotecnologia i del paper jugat pel nostre laboratori hagi estat entenedora. Finalitzo posant l'experiència que hem pogut acumular en la direcció dels objectius esmentats a disposició de la Real Acadèmia de Farmàcia de Catalunya per si considera que poden ser de valor a la seva missió assessora i consultora per la comunitat catalana.

Moltes gràcies per la vostra atenció.

## Bibliografia


1. J.M. Castellanos, J. Piulats. *Determinación de la calcemia.* Laboratorio. Año XXV, nº 300 (1970).
2. Dumonde D.C, Wolstencroft R.A. Panayi G.S. Matthew M., Morley J., Howson W.T. *Lymphokines: Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation.* Nature, Lond. 224, 38 (1969).
3. Dumonde D.C et al. *Clinical effects of Long Term Lymphokine Injections in Patients with Advanced Carcinoma.* First International Conference of Immunopharmacology. Brighton (1980).
4. Abbas A.K. Litchtman A.H, Pober J.S. *Cellular and Molecular Immunology.* Ed. W.B. Saunders Company 2nd. Ed. (1994).
5. Köhler G, Milstein, C. *Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity.* Nature 1975; 256 (5517); 495-7.
6. Winter G, Milstein C. *Man-made antibodies.* Nature 1991; 349: 293-299.
7. Marks J.D, Hoogenboom H.R., Bonnert T, Mc Cafferty J., Griffiths A.D, Winter G. *By-passing immunization human antibodies from V-gene libraries displayed on phage.* J. Mol. Biol. 1991; 222: 581-597.
8. Mendelsohn J. *The epidermal growth factor receptor as a target for therapy with anti-receptor monoclonal antibodies.* Semin. Cancer Biol. 1990; 1:339-44.
9. Mendelsohn J., Shin OM, Donato N, et al. *A phase I study of chimerized anti-epidermal growth factor receptor (EGFr) monoclonal antibody, C225, in combination with cisplatin (CDDP) in patients with recurrent head and neck squamous cell carcinoma (SCC).* Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1999; 18:389 a (Abstract 1502).
10. Strander H, Mogensen K.E. Cantell K (1975). *Production of human lymphoblastoid interferon.* J.Clin. Microbiol. 1, 116-7.

11. Cantell, K. (1986). *Clinical performance of natural human leukocyte interferon.* Immunobiology. 172, 231-42.
12. Rossenberg S.A et al. *Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastasic melanoma.* N. England J. Med. 1988: 319: 1676-1680.
13. Gasson J.C, Weisbort R.H, Kaufman S.E et al (1984). *Purified human GM-CSF: direct action on neutrophils.* Science. 226, 1339-42.
14. Tang D.C, DeVit M, Johnston S.A, *Genetic imunization is a simple method for eliciting an immune response.* Nature, 1992. 356 (6365): 152-4.
15. Massó O, Aliño S.F, Lejarreta M, Blasco F, Piulats J. *Specific Serological Response by Active Immunization with GD3-Bearing Liposomes. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* (1996). Vo 278, n. 3, pp. 1114-1120.
16. Tarrasón G, Bellido D, Eritja R, Vilaró S, Piulats J. *Digoxigenin-Labelled Phosphorothioate Oligonucleotides: A new tool for the study of cellular uptake.* Antisense Research and Development 5: 193-201 (1995).
17. Folkman J. *Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors.* Ann. Surg. 1972; 175: 409-16.
18. Piulats J, Mitjans F. *Angiogenesis Switch Pathways.* En: *Principles of Molecular Oncology. Eds. MH.* Bronchud, M. Foote, W.P. Peters, M.O. Robinson. Humana Press (2000).
19. Mitjans F, Sander D, Adan J, Sutter A, Martinez JM, Jaggle CS, Moyano JM, Kreysch HG, Piulats J, Goodman SL. *An anti-alpha v-integrin antibody that blocks integrin function inhibits the development of a human melanoma in nude mice.* J Cell Sci. 1995 Aug;108 ( Pt 8):2825-38.
20. Reyes G, Villanueva A, Garcia C, Sancho FJ, Piulats J, Lluis F, Capella G. *Orthotopic xenografts of human pancreatic carcinomas acquire genetic aberrations during dissemination in nude mice.* Cancer Res. 1996 Dec 15;56(24):5713-9.
21. Petitclerc E, Stromblad S, von Schalscha TL, Mitjans F, Piulats J, Montgomery AM, Cheresh DA, Brooks PC. *Integrin alpha(v)beta3 promotes M21 melanoma growth in human skin by regulating tumor cell survival.* Cancer Res. 1999 Jun 1;59(11):2724-30.
22. Mitjans F, Meyer T, Fittschen C, Goodman S, Jonczyk A, Marshall JF, Reyes G, Piulats J. *In vivo therapy of malignant melanoma by means of antagonists of alphav integrins.* Int J Cancer. 2000 Sep 1;87(5):716-23.
23. Castel S, Pagan R, Garcia R, Casaroli-Marano RP, Reina M, Mitjans F, Piulats J, Vilaro S. *Alpha v integrin antagonists induce the disassembly of focal contacts in melanoma cells.* Eur J Cell Biol. 2000 Jul;79(7):502-12.
24. Castel S, Pagan R, Mitjans F, Piulats J, Goodman S, Jonczyk A, Huber F, Vilaro S, Reina M. *RGD peptides and monoclonal antibodies, antagonists of alpha(v)-integrin, enter the cells by independent endocytic pathways.* Lab Invest. 2001 Dec;81(12):1615-26.

25. Sipos B, Hahn D, Carceller A, Piulats J, Hedderich J, Kalthoff H, Goodman SL, Kosmahl M, Kloppel G. *Immunohistochemical screening for beta6-integrin subunit expression in adenocarcinomas using a novel monoclonal antibody reveals strong up-regulation in pancreatic ductal adenocarcinomas in vivo and in vitro.* Histopathology. 2004 Sep;45(3):226-36.
26. Este JA, Mitjans F, Piulats J, Clotet I. *Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 infection in macrophages by an α-v integrin blocking antibody.* Antiviral Research . 2006 Mar; 69(3):173-80.
27. Blasco F, Penuelas S, Cascallo M, Hernandez JL, Alemany C, Masa M, Calbo J, Soler M, Nicolas M, Perez-Torras S, Gomez A, Tarrason G, Noe V, Mazo A, Ciudad CJ, Piulats J. *Expression profiles of a human pancreatic cancer cell line upon induction of apoptosis search for modulators in cancer therapy.* Oncology. 2004;67(3-4):277-90.
28. Alhaja E, Adan J, Pagan R, Mitjans F, Cascallo M, Rodriguez M, Noe V, Ciudad CJ, Mazo A, Vilaro S, Piulats J. *Anti-migratory and anti-angiogenic effect of p16: a novel localization at membrane ruffles and lamellipodia in endothelial cells.* Angiogenesis. 2004;7(4): 323-33. Epub 2005 May 9.

# DISCURS DE CONTESTACIÓ

De l'Acadèmic Numerari

**Molt Il·ltre. Sr. Dr. Pere Berga Martí**

***Excel·lentíssim Senyor President,***
***Digníssimes autoritats,***
***Molt Il·lustres Senyores i Senyors Acadèmics***
***Senyores i Senyors,***

En primer lloc vull expressar el meu agraïment a la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya per haver-me designat per a contestar el discurs d'ingrés del Dr. Jaume Piulats i Xanco com Acadèmic Numerari i manifestar la satisfacció personal per a fer-ho, degut a l'amistat i admiració i a les vivències que durant molts anys hem compartit, principalment en el camp de la farmacologia.

Si aquests moments són importants pel Dr. Piulats, pel que signifiquen de reconeixement dels seus mèrits científics i professionals, també ho son per a mi ja que em permeten donar testimoni públic de l'encert de la seva designació com a Acadèmic Numerari d'aquesta Docta Corporació, assignant-li la medalla nº 3 que en el seu dia va pertànyer al nostre President d'Honor i Acadèmic Numerari Dr. Ramon San Martín Casamada, que tant va fer per a crear aquesta institució.

El Dr. Piulats neix a Barcelona i es llicència en Farmàcia l'any 1969 a la nostra Facultat de la Universitat de Barcelona. L'any 1983 obté el títol de Doctor en Farmàcia en la mateixa Universitat obtenint la qualificació màxima d'Excel·lent Cum Laude per a un treball titulat "*Factor antiinflamatorio linfocitario*", realitzat en el Departament de Fisiologia Animal.

Només finalitzar els estudis de llicenciatura (1969) i a l'espera d'iniciar l'obligat servei militar, va treballar durant un curt període de temps en el Laboratori d'Anàlisis Clíniques de l'Hospital de la Creu Roja de Barcelona. D'aquesta estada va sorgir la seva primera publicació (1970) a la Revisa Laboratorio.

A partir d'aquest moment la seva trajectòria científica ve marcada per l'especialització en el camp de la farmacologia, obtenint el corresponent títol a l'Escola de Farmacologia de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona (1972-1974).

Tal i com s'interpreta després d'escoltar el magnífic discurs que ens ha llegit, el seu interès es focalitza en el camp de la immunologia i en les seves possibilitats diagnòstiques i terapèutiques, i és per això que es va formar en aquesta disciplina en els laboratoris de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Més tard, aquesta formació es va completar amb estades a les Universitats de Londres i Cambridge, principalment orientades a la investigació per l'obtenció i ús terapèutic d'anticossos monoclonals.

La seva activitat professional es va iniciar l'any 1971 en els Laboratoris Carlo Erba on va adquirir experiència en el camp de la farmacologia experimental i li va permetre conèixer l'entorn de la indústria farmacèutica.

El 1974 va ser contractat per la firma alemanya Merck (Darmstadt) per tal d'organitzar un Departament de Farmacologia en el Laboratori de Bioinvestigació que l'empresa tenia a Barcelona. A tal fi, va fer una estada de tres mesos a Merck-Darmstadt per conèixer les metodologies que utilitzava la firma alemanya (1975). Des d'aleshores la seva vida professional i científica ha anat lligada a aquest laboratori, primer, com a cap del Departament de Farmacologia i més tard com a Director del Laboratori des de 1986 fins a l'actualitat.

Va ser en aquesta època quan el vaig conèixer coincidint en un Congrés Internacional que es celebrava a Londres i em va sor-

prendre gratament la seva personalitat, el seu nivell científic i el respecte i admiració que li mostraven molts dels colegues que hi participaven.

Com molt bé ens ha explicat en el seu discurs, la seva activitat científica ha anat orientada, principalment, a l'estudi de la bioteràpia del càncer.

Crec sincerament que va ser pioner en propostes biotecnològiques a la nostra ciutat. Així, treballant conjuntament amb l'Hospital de la Creu Roja de Barcelona als inicis dels vuitanta va obtenir interferó leucocitari. També va ser dels primers en organitzar, un laboratori orientat a l'obtenció d'anticossos monoclonals d'ús terapèutic.

Es pot afirmar que, el Centre que dirigeix ha estat el laboratori de recerca en la indústria farmacèutica més important en l'àrea de la bioteràpia del càncer. Això, ha estat reconegut en moltes ocasions pel Ministeri d'Indústria del govern espanyol que li ha donat la qualificació d'Excel·lent dins del Programa Profarma.

El Dr. Piulats ha procurat que en el seu laboratori, ubicat en les modernes instal·lacions del Parc Científic de Barcelona, s'incorporin noves tecnologies: cultius cel·lulars, antisentit, biologia molecular, genòmica, proteòmica, metabolòmica, estratègies RNA d'interferència, models experimentals in vivo, microscopia confocal, tècniques d'imatge in vivo, models d'angiogenesi tumoral, ..., destacant que gran part d'aquest desenvolupament tecnològic s'ha fet amb la col·laboració de grups universitaris.

Independentment de la incorporació de noves tecnologies i avanços científics en el seu laboratori, ha sabut mantenir tota la seva experiència en el camp de la farmacologia funcional ja que aquestes són un complement necessari per a definir i conèixer el perfil farmacobiològic general d'un nou medicament.

Com a activitat més destacada dintre de la bioteràpia del càncer es va especialitzar en el bloqueig farmacològic de l'angiogènesi tumoral, i actualment, el centre que dirigeix és el de referència en angiogènesi del grup Merck.

Amb la col·laboració del grup del Dr. David Cheresh (Institut Scripps, La Jolla, USA), va estudiar el paper fonamental del receptor de vitronectina ($\alpha v\beta 3$) en el procés de neoangiogenesi. Fruit d'aquesta recerca bàsica va participar en el desenvolupament de dos productes: un pèptid cíclic i un anticòs monoclonal, aquest últim obtingut en el laboratori de Barcelona. Actualment, com ja ens ha comentat el Dr. Piulats ambdós agents terapèutics es troben ja en fase de recerca clínica i desitgem que aviat pugin ser a l'abast dels malalts que ho necessiten.

Paral·lelament, continua treballant en diferents projectes en l'àrea de l'angiogènesi, investigant noves dianes i nous agents terapèutics, formant al mateix temps un equip de científics a qui transmet els seus coneixements i els criteris per a treballar en equip.

El Dr. Piulats ha publicat un nombre molt important d'articles científics, principalment relacionats amb el Càncer tant en revistes d'alt impacte com en nombrosos capítols de llibres de farmacologia i ciències relacionades amb l'oncologia.

També ha participat en nombrosos congressos nacionals i internacionals i ha estat invitat a donar conferències a centres tan importants com el Salk Institute de San Diego, el Wistar Institute de Filadèlfia, el Centre Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) de Madrid entre d'altres.

És autor de nombroses patents i ha dirigit diferents tesis doctorals principalment relacionades en el camp de l'angiogenesis, sent també referee de la revista Journal Biochemical Pharmacology.

El 1995 va començar la seva col·laboració docent amb la Universitat de Barcelona com a professor associat d'Immunologia.

Entre altres mèrits cal destacar que el Dr. Piulats és Vocal representant del departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació de la Comissió de Farmàcia i les seves especialitats específiques.

Ha estat Secretari de les Societats Catalana i Espanyola de Farmacologia i l'any 2005 fou President del Comitè Científic del Congrés de l'esmentada darrera Societat, que tothom recorda com un dels de més alt nivell científic.

És evident que l'experiència i currículum del Dr. Piulats el fan mereixedor del seu ingrés a la Reial Acadèmia, i des del meu punt de vista personal crec que les seves aptituds com a farmacèutic i científic es complementen amb unes actituds exemplars com a persona, tan pel seu caràcter jubial i alegre, no exempt de picardia, com per el seu interès i dedicació en diferents activitats culturals, principalment en el camp de la música, pintura i història del cristianisme, a on també destaca de manera important.

Aquesta Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya, amb l'ingrés del Molt Il·lustre Dr. Jaume Piulats i Xancó rendeix un reconeixement a un farmacèutic que estima la seva professió i tal com ens deia en el seu discurs creu en la ciència i en la recerca que es fa en els laboratoris farmacèutics com a eines bàsiques per a donar resposta a les necessitats terapèutiques de molts malalts, principalment en el tractament del càncer.

És per tota la seva aportació humana i científica que el felicito, fent-ho de manera extensiva a la seva muller Júlia i filla Eva, persones entranyables, farmacèutiques ambdues, que comparteixen amb ell la passió pel mar i que segur han estat un suport i un recolzament molt important en la seva trajectòria tan personal com professional.

Estic convençut que el nou acadèmic aportarà a la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya els seus coneixements i la seva professionalitat i només em resta demanar a l'Excel·lentíssim Sr. President que el nou Acadèmic Numerari d'acord amb el que estableixen els Estatuts d'aquesta Reial Acadèmia, rebi de manera solemne la Medalla i Diploma que l'acrediten com a tal.