

REVISIÓN

Biofármacos

Sánchez, Mercedes Leonor^{1*}

¹Laboratorio de Inmunomoduladores y Regeneración de Órganos, Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

*Contacto: Sánchez, Mercedes Leonor; mercedessanchez57@yahoo.com.ar; mercedes.sanchez@conicet.gov.ar

Resumen

Introducción: un biofármaco es un producto farmacéutico elaborado con materiales de partida de origen biológico, tales como microorganismos, órganos y tejidos de origen vegetal o animal, células o fluidos de origen humano o animal, así como de origen biotecnológico, que se obtienen a partir de una proteína o ácido nucleico por tecnología de ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante. Los biofármacos son, por lo general, homólogos de las proteínas humanas o tienen un alto grado de similitud con las mismas. Los productos similares a los biofármacos (biosimilares) no tienen necesariamente el mismo perfil de seguridad y eficacia que los biofármacos originales. Puede esperarse que haya diferencias entre los productos biosimilares de diferentes fabricantes. Para respaldar el monitoreo de farmacovigilancia, se debe identificar con toda claridad el producto específico que se le da al paciente. **Materiales y métodos:** se utilizó el servicio de PubMed del NIH para encontrar bibliografía descriptiva de medicamentos biológicos y la página de ANMAT de la República Argentina, con especial atención sobre medicamentos biológicos, donde se encontraron las disposiciones vigentes. **Objetivo:** hacer una revisión actualizada de biofármacos y marco regulatorio en Argentina. **Conclusión:** en la República Argentina, los biofármacos están regulados por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), en Estados Unidos, por la Administración de Alimentos y Medicamentos (*Food and Drug Administration*, FDA) y en Europa, por la Agencia Europea de Medicamentos (*European Medicines Agency*, EMA). La ANMAT brinda los elementos explicativos y la metodología a seguir para la obtención de los medicamentos biológicos y su inclusión en el mercado.

Palabras clave: biofármaco, biosimilar, marco regulatorio, ANMAT.

Biopharmaceuticals

Abstract

Introduction. A biopharmaceutical is a pharmaceutical product made with starting materials of biological origin (such as microorganisms), organs and tissues of plant or animal origin, cells or fluids of human or animal origin, and/or biotechnological origin (when obtained from a protein or nucleic acid by recombinant DNA technology). Biopharmaceuticals are generally homologous, or highly similar, to human proteins. Products similar to biopharmaceuticals (biosimilars) do not necessarily have the same safety and efficacy profile as the original biopharmaceuticals, and differences between biosimilar products from different manufacturers are also expected. To support pharmacovigilance monitoring, the specific product given to a patient should be clearly identified. **Materials and methods:** the NIH PubMed service and the page of the National Administration of Medicines, Food and Medical Technology of Argentina (ANMAT) were used to find descriptive bibliography of biological medicines, with special attention to those where the current regulations were found. **Objective:** To perform an updated review of biopharmaceuticals and their regulatory framework in Argentina. **Conclusion:** In Argentina, biopharmaceuticals are regulated by the ANMAT, in the USA by the Food and Drug Administration (FDA), and in Europe by the Agency European Medicines Agency (EMA). ANMAT provides the explanatory elements and the methodology to follow to obtain biological medicines and include them in the market.

Key words: biopharmaceutical, biosimilar, regulatory framework, ANMAT.

Introducción

Los medicamentos genéricos son fármacos obtenidos por síntesis química. La principal diferencia entre los productos farmacéuticos tradicionales y los biotecnológicos radica en que estos últimos son producidos por organismos vivos modificados genéticamente.

El concepto de medicamento comprende, entre otros, a aquellos de origen sintético, semisintético y biológico y difieren en que estos últimos se encuentran compuestos por proteínas, ácidos nucleicos, azúcares o una combinación compleja de estas sustancias. También pueden ser entidades vivientes, tales como células o tejidos, o bien, derivados de éstos. Se establecen las normas específicas, según los requisitos científicos y técnicos, y exigencias particulares para el registro de productos biológicos y sus modificaciones, con el fin de acreditar en forma fehaciente su calidad, eficacia y seguridad.

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) regula el registro de medicamentos por el Decreto 150/1992 y modificaciones posteriores, mientras que la reglamentación para los medicamentos biológicos similares fue instaurada en julio del año 2008 y ambos fueron notificados en el Decreto 7075-11, en el Decreto 7729-11 y en la Disposición 3397-12 de la ANMAT. El Decreto N°1271/13 aprueba la nueva estructura organizativa de la ANMAT y crea la Dirección de Gestión de Información Técnica. Entre las funciones de esta nueva dirección, se destaca la tarea de mantener actualizados los sistemas registrales de la Administración Nacional en lo referente al Registro de Especialidades Medicinales (REM), el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) y el Registro de Establecimientos, entre otros.

Mediante la Disposición de la ANMAT N° 7075/11, se establecieron los requisitos y exigencias para el registro de especialidades medicinales de origen biológico. Como se puede extraer de las reglamentaciones de la ANMAT, existen requisitos específicos para la presentación de solicitudes de autorización e inscripción de medicamentos biológicos y/o anticuerpos monoclonales obtenidos por métodos de ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante. Se requiere la información química, farmacéutica y biológica de productos obtenidos por la vía de ADN recombinante, la información sobre el ingrediente farmacéutico activo (IFA) y una detallada caracterización molecular: un esquema de la secuencia de aminoácidos indicando los sitios de glicosilación y otras modificaciones postraduccionales y también, la masa molecular relativa. Se deben proporcionar especificaciones de la estructura de orden superior, secundaria, terciaria y cuaternaria (si corresponden), especificaciones y métodos analíticos: justificación y criterios de aceptación, estándares y materiales de referencia, caracterización y trazabilidad a estándares internacionales (de existir). Para la caracterización de la estructura secundaria y terciaria, deben utilizarse las técnicas analíticas más complejas como el difracción circular, la resonancia magnética nuclear

o la inmunoreactividad, además de aquellas características y datos físicos que tienen en común con las moléculas de origen químico.

Para el proceso de producción del IFA, se debe aportar información acerca del proceso de elaboración, los bancos celulares, el cultivo celular, la cosecha, el proceso de purificación, el envasado, las condiciones de almacenamiento y transporte como la definición del lote, el sistema de numeración de lotes y el tamaño de los mismos, incluyendo información acerca de la conformación de éstos a partir de *pools*.

Se debe presentar el diagrama de flujo y el resumen del proceso de producción del IFA. El diagrama de flujo debe incluir desde el inóculo original hasta la obtención del IFA, conteniendo los procesos de purificación e indicando las instancias de reprocesamiento de productos intermedios o de un ingrediente farmacéutico activo, y un resumen esquemático y descriptivo, indicando cada una de las etapas del proceso de elaboración. Se debe incluir información relevante, tal como las áreas involucradas, las instalaciones, el equipamiento mayor, los medios de cultivo y otros aditivos utilizados, los niveles de duplicación, la concentración de células, los tiempos de cultivo y de mantenimiento, los controles de proceso, los ensayos, los parámetros operacionales y los criterios de aceptación de productos intermedios. Se deben identificar los pasos críticos, las especificaciones y los criterios de aceptación correspondientes.

A los fines de solicitar la inscripción en el REM de anticuerpos monoclonales producidos a través de tecnología de ADN recombinante, deberá presentarse la información química, farmacéutica y biológica establecida en la reglamentación general sobre medicamentos biológicos [Disposición ANMAT N°7075/11] y en los capítulos I y II del Anexo de la Disposición 3397-2012 de la ANMAT.

Según la Disposición 4008 del 26 de abril de 2017, es necesario asegurar la adecuada implementación de los estudios de farmacología clínica fase I, a través de los más altos estándares éticos y científicos, minimizando los riesgos potenciales para los voluntarios que participan en dichos estudios.

Materiales y métodos

En la categoría biofármacos producidos por recombinación de ADN, se incluyen tanto las proteínas o polipéptidos derivados de ADN recombinante, como los anticuerpos monoclonales. Los productos derivados del ADN recombinante pueden contener contaminantes potencialmente perjudiciales, que no se hallan presentes en los equivalentes preparados con los métodos ordinarios, y, en consecuencia, el proceso de purificación debe ser capaz de eliminarlos. Son ejemplos de ello las endotoxinas en productos expresados en células bacterianas, al igual que el ADN celular y los virus contaminantes en los derivados de células animales. Preocupa especialmente la contaminación con ácido nucleico procedente de células transformadas de mamíferos, debido

a la posible presencia de ADN potencialmente oncogénico. El procedimiento de elaboración elegido condicionará la naturaleza y el nivel de los posibles contaminantes. La potencial variabilidad del sistema durante la elaboración puede llevar a modificaciones que favorezcan la expresión de otros genes en el sistema hospedador - vector o que produzcan menor rendimiento del producto o a diferencias cuanti - cualitativas de las impurezas presentes. La producción de cultivos continuos es objeto de consideraciones similares. Es indispensable, por lo tanto, contar con procedimientos que aseguren la uniformidad de las condiciones de elaboración y del producto final.

A modo de generalización, los procesos de elaboración biotecnológicos incluyen las siguientes etapas:

- Etapa de expansión celular (*upstream*): consiste en la obtención de una gran masa del organismo elaborador a través de los procesos de fermentación bacteriana o cultivo celular masivo, al fin de los cuales se cuenta con la biomolécula impura y en condiciones de pH, fuerza iónica, estado de agregación, etc., que deben ser modificadas para su posterior procesamiento.
- Purificación (*downstream*): encadenamiento lógico de procesos que, partiendo del material anterior, debe producir una molécula del grado de pureza requerido, conservando plenamente su actividad biológica y terapéutica. El proceso de *downstream* debe asegurar que el producto cumpla todos los criterios de aceptabilidad para ser empleado como principio activo.
- Recuperación: mediante el empleo de diversas metodologías (micro y ultrafiltración, centrifugación, precipitación salina o con solventes, filtración, rotura celular, extracción en dos fases o con solventes, etc.), el material proveniente del proceso de *upstream* es llevado a condiciones previamente definidas, a fin de obtener la materia prima cruda (principio activo de baja pureza) para su posterior purificación.
- Purificación: la materia prima cruda se purifica, mediante diversos métodos como, por ejemplo, cromatografía líquida de inmunoafinidad, intercambio iónico, exclusión molecular, interacción hidrofóbica, etc. El material resultante puede ser denominado "principio activo puro" o "materia prima pura".
- Acondicionamiento: como ocurre con cualquier principio activo, la materia prima pura debe ser acondicionada para lograr un producto semielaborado (granel) que respete todos los requisitos correspondientes a un producto farmacéutico.

Los productos biotecnológicos deben satisfacer las normas generales para el control de la calidad de los productos biológicos como ensayos de actividad, toxicidad, pirogéneos, estabilidad y esterilidad, además de los controles que aseguren la identidad y la pureza de la molécula obtenida, comparándola contra una de referencia, así como un conjunto de ensayos que verifiquen su integridad, grado de agregación, secuencia correcta de aminoácidos, etc.

El origen, fenotipo, genotipo y descripción del medio de cultivo de la célula hospedadora (eucariota o procarriota) debe ser informado, como así también, el patrón de crecimiento y el aspecto morfológico de la línea celular, que debe ser estable desde el banco celular maestro hasta el final de la elaboración. La estrategia de clonado del gen y la caracterización del vector recombinante con su origen, caracterización y análisis de la secuencia nucleotídica deben quedar documentados; se recomienda informar las partes componentes del vector, los orígenes de replicación, los marcadores de resistencia a antibióticos, los promotores, las secuencias moduladoras (*enhancers*), un mapa de digestión con las enzimas de restricción y, si es necesario que el producto sea sintetizado como una proteína de fusión, se recomienda incluir en la documentación las características del sistema hospedador - vector, a la vez que el mecanismo de transferencia del vector a la célula hospedadora (transfección, infección, microinyección, etc.), el número de copias, el estado físico (integrado o extracromosomal) y la estabilidad del vector en la célula hospedadora. Se deben describir los métodos empleados para promover y controlar la expresión.

Existe un banco celular maestro (BCM) y un banco celular de trabajo (BCT). Los bancos celulares pueden ser tanto de células eucariotas como procarriotas y proveen una fuente constante de material de partida para los ensayos. La ventaja de un sistema de bancos celulares es la capacidad de contar con una detallada caracterización de la línea celular y con una disminución de las posibilidades de contaminaciones con otras líneas celulares o con otros microorganismos.

El BCM es una suspensión homogénea de células originales ya transformadas con el vector de expresión que contiene el gen deseado, la cual es distribuida en volúmenes iguales dentro de recipientes individuales, en condiciones definidas para su criopreservación en nitrógeno líquido. También, deben obtenerse datos para demostrar el número de copias e identidad del sistema de expresión así como la calidad y la cantidad de la proteína que éste produce. Debe confirmarse la secuencia de nucleótidos del gen clonado en el estado de BCM.

El BCT es una suspensión homogénea de células derivadas del BCM luego de un número definido de pasajes, distribuida en volúmenes iguales dentro de recipientes individuales para su almacenamiento por criopreservación en nitrógeno líquido. La localización, identificación e inventario de las ampollas individuales deben ser cuidadosamente documentados. Se deben presentar datos sobre la uniformidad de las condiciones de fermentación y de la propagación de los cultivos sobre el mantenimiento del rendimiento del producto.

El control de calidad de los bancos celulares debe incluir información referente a la estabilidad a través de medidas de viabilidad y de retención del vector, la identidad celular, a través de su caracterización fenotípica, y se debe contar con evidencias que demuestren que los bancos celulares están libres de agentes infecciosos potenciales u oncogénicos

[virus, bacterias, hongos o micoplasmas]. Se debe considerar la oncogenicidad potencial del banco celular, en el caso de células eucarióticas derivadas de mamíferos, así como contar con registros fidedignos de la composición y origen de los medios de cultivo empleados para los bancos celulares. Debido a que los sueros de animales pueden producir respuestas alérgicas en seres humanos, deben realizarse esfuerzos para reducir los niveles de suero requeridos para la propagación y elaboración en cultivos celulares, tanto como sea posible. La cantidad residual de suero o aditivos en el producto final debe ser determinada y no exceder los límites establecidos.

Los requisitos de identidad, pureza, actividad y estabilidad del producto están estrechamente relacionados con la tecnología de procesamiento empleada y las características fisicoquímicas y biológicas de un principio activo específico, debiendo tenerse en cuenta el uso previsto para el producto. En el control de calidad de productos obtenidos por tecnología de ADN recombinante, es frecuente emplear la combinación de ensayos validados para el producto final y durante el proceso, para asegurar la eliminación de impurezas no deseadas hasta alcanzar los niveles requeridos por la autoridad sanitaria. Resulta esencial la caracterización rigurosa del principio activo mediante métodos químicos, físicos y biológicos.

Contenido proteico

La cuantificación de proteínas en un producto dado es una determinación importante por sí misma y porque los resultados de otras valoraciones como, por ejemplo, la actividad específica dependen del contenido proteico. Existen varios métodos aceptados para la determinación del contenido proteico como la absorbancia ultravioleta, la fluorescencia, los métodos de Lowry, de Bradford y de Kjeldahl. También, se emplea el análisis de aminoácidos, la secuenciación proteica, la determinación del amino-terminal y el carboxilo-terminal. Se determina el mapa peptídico y se realizan valoraciones inmunológicas. Otras técnicas empleadas son la electroforesis SDS / PAGE, el isoelectroenfoque, la electroforesis capilar de alta resolución (HPCE), los métodos cromatográficos como la cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) en fase reversa, CLAE de intercambio iónico, CLAE de exclusión molecular y cromatografía de interacción hidrofóbica.

Determinación de ADN

El ADN residual de la célula hospedadora es una posible impureza, diferente en cada producto, porque depende del organismo hospedador y del proceso de purificación. Los niveles de ADN deben ser cuantificados empleando métodos con una sensibilidad apropiada. Entre las técnicas empleadas, pueden mencionarse la hibridación en dot-blot, empleando sondas específicas marcadas, la tecnología de biosensores, la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), así como la determinación de carbohidratos.

Glicosilación

La glicosilación (unión covalente de cadenas de oligosacáridos a una cadena peptídica) es una posible modificación posterior a la traducción de ARNm. Es característica de las proteínas recombinantes que se expresan a partir de líneas de células eucariotas. La glicosilación puede tener influencia sobre la farmacocinética y la función de la proteína, de modo que cambios en la glicosilación pueden tener impacto significativo sobre las características farmacodinámicas y la eficacia terapéutica de un producto.

La glicosilación es un indicador sensible del control del proceso. Idealmente, un producto debería ser caracterizado, al menos una vez, en cuanto a la identificación de los sitios de glicosilación, como así también respecto del carbohidrato específico de cada sitio. La cuantificación de los azúcares específicos y los carbohidratos totales debería realizarse en cada lote. En algunos casos, el predominio de ácido siálico puede hacer del isoelectroenfoque una técnica útil como alternativa a la cuantificación de azúcares específicos en cada lote. Es óptimo fijar las especificaciones acerca de la cantidad de cada isoforma para la liberación de los lotes como asimismo, conocer la actividad específica de cada una de ellas.

Se pueden adoptar dos enfoques principales para determinar los azúcares unidos en forma covalente a la glicoproteína. El primer enfoque es la determinación de la composición de azúcares unidos a una glicoproteína. El segundo, liberar y separar las estructuras de oligosacáridos individuales unidas covalentemente a la misma. Este último permite obtener un mapa de oligosacáridos análogo al mapeo peptídico para una proteína.

Actividad biológica

La actividad biológica de los biofármacos está condicionada, en gran medida, por su estructura, el grado y el patrón de glicosilación (en el caso que se trate de una glicoproteína) y el perfil de isoformas del producto final.

Existen diferentes sistemas de expresión de proteínas recombinantes y organismos productores. El vector de expresión es elegido, normalmente, en combinación con el sistema de expresión. Actualmente, se pueden sintetizar proteínas recombinantes en organismos vegetales y animales, tanto procariotas como eucariotas. Las proteínas recombinantes pueden ser expresadas en cultivos celulares de bacterias, levaduras, hongos, mamíferos, plantas e insectos.

La mayoría de los polipéptidos secretados por eucariotas están glicosilados y el patrón de glicosilación de un determinado polipéptido es específico de la especie, tejido y célula. La glicosilación contribuye con la especificidad en ciertas interacciones proteicas, pero no siempre es necesaria para la actividad de la proteína; por ejemplo, el gamma-interferón comercial producido en bacterias no está glicosilado, pero hay casos en los que es esencial.

Ensayo biológico para identidad y potencia

Los métodos para determinar la potencia de los productos biológicos obtenidos por técnicas de ADN recombinante son de fundamental importancia, dado que miden la actividad del producto. La actividad biológica, expresada en unidades internacionales, debe conservar una estricta relación directa con la masa del producto. Esto significa que el efecto biológico medido [actividad] por unidad de masa debe comportarse como una constante acotada dentro de límites especificados y autorizados. La actividad expresada por unidad de masa se denomina "actividad específica" y constituye un parámetro de identidad y/o pureza. Esencialmente, hay dos métodos para cuantificar la actividad: los análisis que emplean un modelo animal y los análisis basados sobre cultivos de células. Para medir la masa, se realizan análisis fisicoquímicos. Cada uno de estos métodos es de frecuente aplicación en el control de calidad de productos biológicos.

1. Análisis que emplean un modelo animal: los análisis biomiméticos en modelos animales han sido empleados rutinariamente, desde hace mucho tiempo, en el control de calidad de productos biológicos. A pesar de su larga historia, tienen una serie de desventajas: la necesidad de un gran número de animales de características definidas, contar con las instalaciones apropiadas y el personal debidamente capacitado para el manejo de los animales, además de largo tiempo de análisis [días o semanas]. Se emplean en aquellos casos donde los análisis basados sobre cultivos de células o métodos fisicoquímicos no dan resultados más confiables que los biomiméticos. Se podrán emplear métodos fisicoquímicos cuando se especifique en la monografía correspondiente. La ventaja esencial de este tipo de métodos reside en que son los únicos capaces de reflejar fielmente la integridad y apropiada disponibilidad de la molécula biológica para expresar el efecto deseado.

2. Análisis basados sobre cultivo de células [*in vitro*]: proveen información sobre el efecto del producto biológico en un sistema vivo, pero pueden dar menos información sobre el estado conformacional de la molécula (integridad y reconocimiento por receptores específicos) que cuando se utilizan animales. El hecho de que estos métodos puedan ser automatizados y repetidos un gran número de veces permite obtener resultados reproducibles.

Por otra parte, los bioanálisis basados sobre cultivo de células pueden ser divididos en dos grupos: a) los que necesitan cultivos primarios de origen humano o animal y b) los que requieren líneas celulares en cultivo continuo como, por ejemplo, la medición del efecto de citoquinas, ya sea promoviendo la actividad celular o bien, inhibiendo la actividad o secreción de otras citoquinas.

3. Análisis por métodos fisicoquímicos: este grupo de análisis no se basa sobre un modelo vivo sino que, generalmente, tiene en cuenta la acción química de un producto biológico. Estos métodos son comparativamente simples, rápidos, precisos y exactos. Otra ventaja es que pueden ser empleados para proveer resultados confiables de la estabili-

dad del producto. La principal desventaja de estos métodos es que pueden ser insensibles a cambios en la molécula, con la lógica divergencia con la actividad en sistemas biológicos.

Inmunogenicidad de los bioterapéuticos

Las modificaciones postraduccionales (PTMs) dan como resultado productos proteicos maduros. Estas modificaciones incluyen glicosilación, acetilación, acilación, ADP-ribosilación, amidación, -carboxilación, -hidroxilación, formación de enlaces disulfuro, fosforilación, procesamiento proteolítico y sulfatación. Todas las células utilizan PTMs para regular la actividad celular y estas PTMs tienen un impacto mayor en la evolución.

La respuesta inmunogénica a las moléculas terapéuticas puede generar anticuerpos antidroga (ADAs), los cuales pueden ser neutralizantes o no neutralizantes. Los anticuerpos neutralizantes se unen a las proteínas terapéuticas de manera tal que impiden la funcionalidad biológica de las mismas.

Entre los años 1920 y 1930, se produjeron los primeros productos terapéuticos de la insulina, que tenían origen bovino y porcino y, por lo tanto, eran inmunogénicos en el hombre. En algunos casos, fueron reportadas reacciones anafilácticas fatales.

La estructura molecular de las proteínas purificadas a partir de fuentes animales es diferente de las de la contraparte humana. Así, se espera que estas proteínas puedan ser vistas como "extrañas" por el sistema inmune humano. La remoción de la proinsulina, C-peptido, glucagón y somatostatina de preparaciones de insulina humana lleva a una remarcable disminución de la inmunogenicidad. Estos resultados sugieren que los anticuerpos antinsulina pueden ser generados contra las proteínas no-insulina o los contaminantes del tipo adyuvantes. Esta observación indica que la desviación de la estructura del homólogo humano no es la única determinante de la inmunogenicidad. Las impurezas han sido consideradas responsables de la misma.

Las hormonas de crecimiento humanas (hGH) derivadas de las glándulas pituitarias de cadáveres y de pacientes con hipofisectomía han sido usadas en niños con hipopituitarismo para estimular su crecimiento. La humanización de los anticuerpos monoclonales ha disminuido significativamente la inmunogenicidad, especialmente, las reacciones alérgicas culminantes en un shock anafiláctico observado con anticuerpos murinos tempranos, los cuales generan anticuerpos humanos antiratón (HAMA). Sin embargo, algunos anticuerpos humanizados e incluso moléculas de anticuerpo con secuencias humanas conllevan un riesgo inmunológico.

A menudo, la inmunogenicidad está asociada con secuencias únicas no humanas en las regiones del *cluster* de diferenciación (CDRs) de estos anticuerpos. Los factores intrínsecos influyen la inmunogenicidad de los anticuerpos; por ejemplo, aquellos dirigidos a los marcadores de la superficie celular tienen un alto riesgo de inmunogenicidad,

mayor que aquellos dirigidos contra factores solubles. Las razones para esto no están completamente dilucidadas, pero se cree que ocurre a través de un mecanismo de internalización del antígeno y subsecuente procesamiento y presentación por las células blanco [1, 2].

Los cambios en la manufactura de los medicamentos biológicos son habituales, aunque los profesionales de la salud y los pacientes a menudo no son conscientes de ello. Por ejemplo, el infliximab ha sufrido más de 35 alteraciones en su vida clínica, en un período cercano a los 20 años [3]. La mayoría de estos cambios son menores y el productor demuestra al ente regulador que los biológicos no fueron modificados a nivel fisicoquímico [4]. Sin embargo, no todos los cambios son triviales y algunos son introducidos con la intención explícita de mejorar los parámetros clínicos.

La evolución biológica describe cómo los cambios en la manufactura hacen que las propiedades de los medicamentos biológicos se diferencien del original [5]. Por ejemplo, una proteína recombinante puede sufrir alteraciones secuenciales en los tres componentes: la substancia biológicamente activa, el estabilizador y el empaquetamiento, transformándose en una droga biológica cuyos principales componentes han sido cambiados. El interrogante que se plantea es: ¿la droga modificada mantiene el perfil de seguridad y eficacia de la droga original? La evolución biológica puede mejorar o empeorar la seguridad. Los cambios en los productos biológicos a menudo se realizan con la intención de mejorar una droga biológica establecida, en general, para disminuir su inmunogenicidad e incrementar su tolerancia y seguridad [6-9].

La única manera de demostrar similitud entre el innovador y el biosimilar en el desarrollo es a través de ensayos clínicos comparativos. A pesar de esto, su insuficiente potencia para detectar complicaciones iatrogénicas poco frecuentes convierte la exigencia de la realización de una farmacovigilancia activa en un requisito indispensable para la autorización y posterior comercialización de los biosimilares. El desarrollo de los medicamentos biosimilares comprende un proceso mucho más complejo que el de los medicamentos genéricos tradicionales, lo que se traduce en costos de obtención muy superiores a los de los fármacos de síntesis química, tanto en términos de tiempo como de dinero.

Discusión

En el laboratorio, se ha puesto a punto una técnica de obtención de una proteína de fusión compuesta por el inhibidor secretorio de serino proteasas (SLPI) y otra serpina denominada "Cementoin". En una publicación de *Scientific Report de Springer Nature* del año 2018, [10] se detallan los ensayos llevados a cabo para determinar la actividad biológica de esta proteína de fusión en comparación con SLPI.

Los anticuerpos monoclonales pueden ser producidos de varias formas, según sea su origen murino o humano. En una revisión publicada previamente en esta revista, se

hace mención a los métodos y la clasificación de anticuerpos monoclonales e inflamación [11]. El cultivo y mantenimiento de cultivos celulares de este tipo es costoso. Se validan las plantas de producción y se presentan también requerimientos adicionales de bioseguridad para conseguir la aprobación por parte de las agencias reguladoras, ya que cualquier contaminante de un cultivo celular de mamífero es susceptible de pasar al paciente que recibe la medicación. Todo esto repercute en el precio final del producto. Además, la EMEA exige dos etapas diferenciadas: la primera hace referencia a exigencias de tipo general, aplicables a todos los biosimilares, y la segunda recoge requisitos más específicos, de aplicación a cada biosimilar concreto en desarrollo. En la primera etapa de requisitos legales de aplicación general, se incluyen aspectos de calidad en los procesos de obtención y fabricación del biosimilar, así como aspectos clínicos y no clínicos referentes a su obtención. En relación con las exigencias más específicas, que constituyen el segundo cuerpo de la guía, han sido publicados cuatro anexos con requisitos específicos sobre el desarrollo, la fabricación y la autorización de biosimilares de insulina recombinante, de hormona de crecimiento recombinante, de factores de crecimiento de colonias de granulocitos y de eritropoyetina recombinante (rEPO).

Aunque la farmacoepidemiología de agentes biológicos se está volviendo cada vez más compleja, un principio simple para evaluar el riesgo de eventos adversos es asegurar medidas de comprobación de casos y exposición del paciente. Los registros biológicos logran esto a través de informes activos imparciales de eventos adversos junto con el seguimiento de los cambios de fabricación.

Con respecto a la evolución biológica en sí misma, fabricantes y reguladores aceptan fácilmente que puede mejorar el perfil de seguridad a corto plazo de un fármaco y tienen mayor resistencia a aceptar que podría alterar el perfil de seguridad a largo plazo [12, 13]. Algunos reguladores y fabricantes han cuestionado la validez de las fuertes señales de seguridad con productos biológicos evolucionados que, por necesidad, se basan sobre datos de notificación espontánea y no, sobre estudios farmacoepidemiológicos rigurosos [12, 13]. El aumento de la inmunogenicidad puede producir serios efectos adversos, mientras que las reducciones en la inmunogenicidad pueden aumentar la biodisponibilidad del fármaco y desenmascarar los efectos tóxicos de los mismos. [14, 15].

Los profesionales de la salud deben ser conscientes del fenómeno de la evolución biológica, mientras ejecutan los informes de la seguridad de los fármacos, y deberían evitar la complacencia cuando se prescriben agentes biológicos establecidos.

La trazabilidad de los medicamentos biosimilares es un aspecto que actualmente genera cierta controversia. Se acepta que se deben establecer sistemas adecuados que permitan asegurar la trazabilidad de los biosimilares, una vez que éstos lleguen al mercado. En la actualidad, se uti-

liza el mismo sistema de identificación que en el caso de los genéricos de síntesis química, de manera que se asigna el mismo nombre de identificación o nombre de propiedad internacional (INN, *international nonproprietary name*) a medicamentos biosimilares diferentes, desarrollados a partir de un mismo producto innovador de referencia. Algunas opiniones consideran que este sistema de nomenclatura puede dificultar la correcta identificación de cada producto biosimilar en el momento en que salga al mercado, aspecto clave en las funciones de farmacovigilancia. Para intentar paliar este problema, algunos expertos creen que se debería incluir en el INN algún identificador diferencial entre los biosimilares. Otras fuentes consideran que la trazabilidad no se pierde, aunque diversos biosimilares tengan el mismo INN, ya que cada uno tiene un nombre comercial registrado diferente.

Para entender la posición de los biosimilares en terapéutica, es necesario explicar que, en nuestro entorno, los medicamentos biotecnológicos son, en su mayoría, medicamentos clasificados como de uso hospitalario y, por lo tanto, es en este ámbito donde mayoritariamente se situará el debate sobre la selección y la utilización de biosimilares. Diversos elementos como la disminución de costos, las políticas institucionales, los programas de gestión de riesgos, entre otros, serán aspectos a evaluar en una primera instancia por parte de las comisiones farmacoterapéuticas de los hospitales. Aun así, después de un cierto tiempo, una vez normalizada su utilización, es probable que se pase a una etapa en que los biosimilares/biotecnológicos se puedan considerar (con los matices adecuados) equivalentes terapéuticos en todos sus efectos. Por otra parte, desde los Servicios de Farmacia se deberán asegurar los procesos de trazabilidad, mientras los INN sean los mismos que los de los biotecnológicos de referencia.

El impacto de los biosimilares en el ámbito de la atención primaria es más limitado, como mínimo en una primera etapa, ya que la mayoría de ellos son de uso hospitalario. Además, se debe recordar que, a diferencia de los medicamentos genéricos, los biosimilares se definen como medicamentos no intercambiables en el proceso de dispensación, de acuerdo con el marco legal actual.

Los fármacos obtenidos por biotecnología son una clase terapéutica con características específicas diferenciales en relación con los fármacos convencionales que se obtienen por síntesis química o los que se extraen de productos naturales y, por lo tanto, los biosimilares no son a los medicamentos biológicos innovadores lo que los genéricos, a los productos de síntesis química. Se demuestra que el término "genérico" no es aplicable y que los biosimilares no pueden ser regulados de la misma forma que los medicamentos genéricos. No obstante, dado que los biosimilares se obtienen mediante procesos de fabricación cuya calidad se controla de forma similar a la de los productos biotecnológicos innovadores, es posible garantizar en ambos tipos de productos su eficacia y seguridad, las cuales se basan tanto

en los estudios preclínicos y clínicos exigidos como en la obligatoriedad para el laboratorio fabricante de implementar un plan de farmacovigilancia y gestión de riesgos tras su comercialización. Esto, unido a la reducción que conlleva el uso de los biosimilares en los costos de los tratamientos, permitirá a un mayor número de pacientes acceder a estos medicamentos.

Los biofármacos son muy lábiles y, por lo general, de administración parenteral. Si se tomaran oralmente, se destruirían a causa de los ácidos y enzimas en el estómago antes de alcanzar el torrente sanguíneo. Son termosensibles y deben almacenarse dentro de rangos de temperatura muy específicos. Para un medicamento de síntesis química compuesto de una pequeña molécula, puede ser suficiente un estudio de bioequivalencia que involucre un número pequeño de sujetos para demostrar la "igualdad" de éste, pero para un biofármaco, se requiere establecer, con un nivel de certeza razonable, que las diferencias de los procesos de producción entre el producto original y el similar no afectarán la seguridad y/o eficacia del producto para los pacientes. No es suficiente tener la experiencia en la elaboración de dicho producto, sino que se requieren controles durante el proceso, estudios de toxicidad, farmacocinética *in vivo*, estudios de farmacodinámica y fundamentalmente, estudios de inmunogenicidad y otros estudios clínicos de seguridad y eficacia que en cada caso sean necesarios.

Los fármacos biológicos como las proteínas recombinantes y los anticuerpos monoclonales han revolucionado el tratamiento de numerosas enfermedades. Las principales aplicaciones son el tratamiento de la diabetes, la anemia, las alteraciones de la hemostasia, las enfermedades neurológicas, las enfermedades hematológicas, las hepatitis B y C, la artritis reumatoide, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Crohn, distintos tipos de cáncer avanzado o metastásico y los trasplantes, aunque también ha sido descrito su uso en la terapia génica.

Referencias bibliográficas

- [1]. Harding FA, Stickler MM, Razo J, DuBridg RB. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions. *mAbs*. 2010;2(3):256-65.
- [2]. Radstake TR, Svenson M, Eijsbouts AM, van den Hoogen FH, Enevold C, van Riel PL, et al. Formation of antibodies against infliximab and adalimumab strongly correlates with functional drug levels and clinical responses in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(11):1739-45.
- [3]. Schneider CK. Biosimilars in rheumatology: the wind of change. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(3):315-8.
- [4]. Chirino AJ, Mire-Sluis A. Characterizing biological products and assessing comparability following manufacturing changes. *Nat Biotechnol*. 2004;22(11):1383-1391.
- [5]. Ramanan S, Grampp G. Drift, evolution, and divergence

- in biologics and biosimilars manufacturing. *Bio-Drugs*.2014;28(4):363-72.
- [6]. Giovannoni G, Barbarash O, Casset-Semanaz F, Jaber A, King J, Metz L, et al. Immunogenicity and tolerability of an investigational formulation of interferon-beta1a: 24- and 48-week interim analyses of a 2-year, single-arm, historically controlled, phase IIIb study in adults with multiple sclerosis. *Clini Ther*. 2007;29(6):1128-45.
- [7]. Khan O, Rieckmann P, Boyko A, Selmaj K, Zivadinov R, Group GS. Three times weekly glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2013;73(6):705-13.
- [8]. Bennett CL, Luminari S, Nissenson AR, Tallman MS, Klinge SA, McWilliams N, et al. Pure red-cell aplasia and epoetin therapy. *N Engl J Med*. 2004 Sep 30;351(14):1403-8.
- [9]. Grillberger L, Kreil TR, Nasr S, Reiter M. Emerging trends in plasma-free manufacturing of recombinant protein therapeutics expressed in mammalian cells. *Biotechnol J*. 2009;4(2):186-201
- [10]. Maffia PC, Guerrieri D, Villalonga X, Caro F, Gomez S, Tateosian N, et al. Cementoin-SLPI fusion protein binds to human monocytes and epithelial cells and shows higher biological activity than SLPI. *Sci Rep*. 2018;8(1):5332.
- [11]. Sánchez ML. Anticuerpos monoclonales empleados como agentes terapéuticos en enfermedades inflamatorias. *Bioquímica y Patología Clínica*. 2013;77(3):27-33.
- [12]. Ben-Amor AF, Trochanov A, Fischer TZ. Cumulative Review of Thrombotic Microangiopathy, Thrombotic Thrombocytopenic Purpura, and Hemolytic Uremic Syndrome Reports with Subcutaneous Interferon beta-1a. *Advances in therapy*. 2015;32(5):445-54.
- [13]. Braun MM, Wise RP, Wood JJ. Epoetin and pure red-cell aplasia. *N Engl J Med*. 2005;352(5):511-2; author reply 511-2.
- [14]. Kavanagh D, McGlasson S, Jury A, Williams J, Scolding N, Bellamy C, et al. Type I interferon causes thrombotic microangiopathy by a dose-dependent toxic effect on the microvasculature. *Blood*. 2016;128(24):2824-33.
- [15]. Hesse D, Sellebjerg F, Sorensen PS. Absence of MxA induction by interferon beta in patients with MS reflects complete loss of bioactivity. *Neurology*. 2009;73(5):372-7.