

2° Premio

Trabajo libre **INMUNOGENICIDAD Y MEDICAMENTOS BIOTERAPEUTICOS- ORIGEN, IMPLICANCIAS Y ESTRATEGIAS PARA SU EVALUACION**

Dres. Patricia Aprea, Carlos Chiale

INTRODUCCIÓN Los avances en ingeniería genética junto con el desarrollo de líneas celulares bien caracterizadas han supuesto una auténtica revolución en el desarrollo y generación de nuevos fármacos de origen biológico-biotecnológico, permitiendo nuevas opciones terapéuticas particularmente en áreas donde no existían posibilidades o éstas eran insuficientes.

Por un lado, esto hizo posible la producción de numerosas proteínas biológicamente activas en cantidades difíciles de obtener de sus fuentes naturales, y por otro, dichas técnicas han permitido la manipulación controlada de sus secuencias con el fin de mejorar la eficacia terapéutica, la seguridad o el rendimiento en la producción. Otro avance importante para el desarrollo de los medicamentos biotecnológicos ha sido la mejora, y en muchos casos la automatización, de las técnicas de purificación y análisis de proteínas, lo cual ha permitido asegurar una buena caracterización del producto, por muy complejo que éste sea. Todo esto ha permitido la producción de moléculas terapéuticas seguras que en algunos casos han sustituido a otras que anteriormente eran obtenidas de tejidos humanos o animales.

Los medicamentos biotecnológicos o bioterapéuticos son proteínas de elevada actividad biológica /terapéutica, de gran tamaño molecular y estructura notablemente compleja, aspectos que junto con otros parámetros tales como la estructura tridimensional, la cantidad de variantes ácido base o modificaciones posteriores a la traslación - como el perfil de glicosilación - pueden resultar alteradas en grado significativo por cambios que en un principio se podrían considerar "menores" dentro del proceso de manufactura, diferenciándolos de los medicamentos obtenidos por métodos de síntesis o semisíntesis.

Asimismo, la investigación en nuevos sistemas de expresión ha permitido obtener medicamentos biotecnológicos de fuentes "menos convencionales" como por ejemplo animales o plantas transgénicos. Así la EMA autorizó en junio de 2006 el primer medicamento biotecnológico (Atryn, antitrombina III humana recombinante) producido en la leche de cabras transgénicas.

La disponibilidad de medicamentos de origen biológico ha ido aumentando en las últimas décadas. La primera generación fue de origen no-humano tales como la insulina bovina, la estreptoquinasa o estafiloquinasa, éstos fueron seguidos por productos de origen natural o de origen humano tales como la hormona de crecimiento o el factor VIII. Posteriormente, con el avance de los métodos biotecnológicos llegaron los medicamentos producidos mediante técnicas de ADN recombinante. (Interferon α 2 a, Interferon β , eritropoietin, insulina, hormona de crecimiento, factores estimulantes de colonias y anticuerpos monoclonales, entre otros). Actualmente estamos en presencia de los medicamentos considerados de alta tecnología que incluyen los utilizados en las denominadas 'terapias avanzadas' como la terapia génica, terapia celular somática e ingeniería de tejidos.

Uno de los mayores problemas asociados con la utilización de medicamentos bioterapéuticos, sin duda alguna es que por su propia naturaleza proteica y/o como consecuencia de los procesos productivos utilizados para su obtención, éstos productos tienen la potencialidad de inducir respuesta inmune o Inmunogenicidad, la cual en muchos casos puede no tener una significancia clínica relevante, sin embargo, en ciertas situaciones las consecuencias pueden ser severas y potencialmente letales, por pérdida de la eficacia del medicamento o desencadenando autoinmunidad a las moléculas endógenas.

OBJETIVO Efectuar una revisión de las causas más relevantes que determinan la capacidad potencial de los medicamentos bioterapéuticos para inducir una respuesta inmune (inmunogenicidad) cuando las mismas son administradas en seres humanos, haciendo hincapié en las implicancias de dicha respuesta sobre la eficacia y seguridad del medicamento, y en las estrategias disponibles para su estudio, evaluación y predicción, en particular aquellas consideradas innovadoras.

MÉTODO DE BÚSQUEDA DE LA INFORMACIÓN El material relevado fue obtenido a partir de documentos propios regulatorios y/o de otras autoridades reguladoras de medicamentos tomadas como referentes, información

disponible sobre estudios y evaluaciones sobre inmunogenicidad efectuados para la autorización de productos, guías internacionales sobre aspectos a ser tenidos en cuenta para el desarrollo de medicamentos biológicos-biotecnológicos, información de farmacovigilancia relacionada con efectos adversos relacionados con medicamentos bioterapéuticos, trabajos publicados sobre métodos y estrategias convencionales e innovadoras para la evaluación y predicción de inmunogenicidad.

RESULTADOS

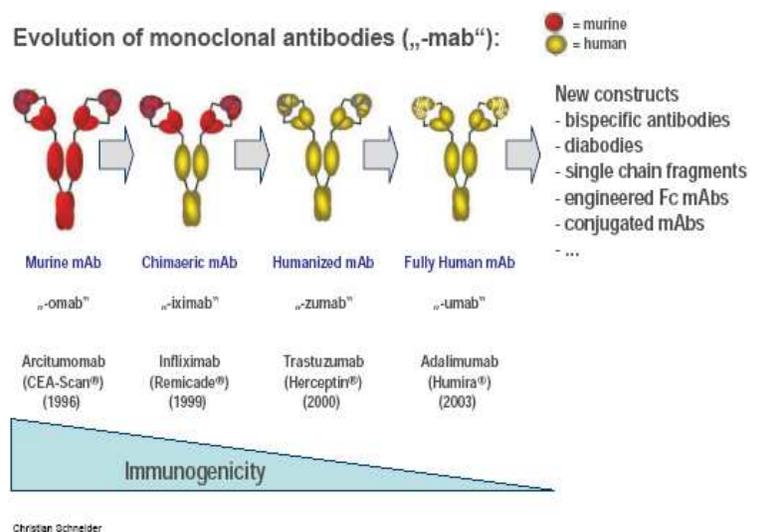
A- CAUSAS/ORIGEN Las proteínas terapéuticas pueden inducir respuesta inmune cuando son administradas a seres humanos. Las consecuencias de estos anticuerpos anti-producto (anti-drug antibodies- AD) pueden incluir pérdida parcial o completa de su eficacia, farmacocinética alterada o reacciones cruzadas con las proteínas endógenas del paciente. Esto último puede resultar en efectos adversos severos que pueden inclusive llevar a riesgo mortal.

Las bases teóricas de la inmunogenicidad a los bioterapéuticos se encuentran por un lado en la naturaleza extraña o foránea de las proteínas terapéuticas (antígenos de origen exógenos o neo antígenos) o bien en su similitud con las moléculas propias del organismo (antígenos propios). Esto significa que la inmunogenicidad puede darse a través de dos tipos de reacción principales: a) Reacción antígeno-anticuerpo: reacción protectora contra antígenos exógenos, b) Reacciones autoinmunes: reacción adversa contra las propias proteínas y homólogos humanos administrados. En ambos casos la activación de Células B secretoras de anticuerpos deriva en la manifestación clínica de la Inmunogenicidad.

La respuesta inmune a la administración de proteínas exógenas o neo-antígenos (medicamentos derivados de fuentes no humanas tales como microorganismos, plantas o animales), induce la producción de anticuerpos neutralizantes, ocurriendo como una

reacción tardía luego del primer encuentro con el antígeno.

Las células B se unen a los antígenos mediante receptores específicos que están en su superficie, una vez activada, las células B procesan el antígeno de manera tal que se reconozca, y estimula entonces la unión de la célula T. Este proceso estimula las células B para que secreten anticuerpos

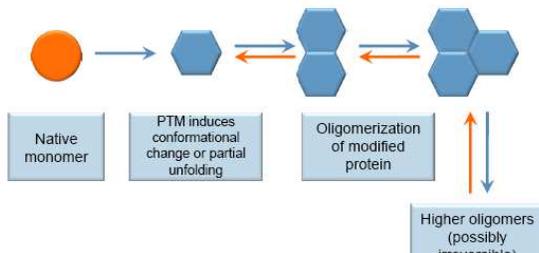


que puedan unirse y neutralizar a los antígenos exógenos. En el caso de productos homólogos a humanos tales como productos obtenidos vía ADN recombinante, la respuesta inmune produce anticuerpos de unión, siendo mas lenta que la anterior (en función del porcentaje no humano) y desaparece con la interrupción del tratamiento. La reacción se desarrolla a partir de la activación de las células B reconociendo la proteína endógena como parte de la exógena (como único antígeno) Los anticuerpos se unen al producto exógeno y al endógeno, ocasionando la rotura de la tolerancia de la célula B (inactivación de la proteína endógena). Los medicamentos con alto porcentaje no humano pueden estimular este tipo de reacción inmune. La figura 1 muestra la relación entre inmunogenicidad y evolución de la naturaleza de los anticuerpos monoclonales (mAbs): mAbs murinos-alta inmunogenicidad vs. mAb totalmente humanizados-baja inmunogenicidad. Fig. 1

Muchos son los factores que influyen en la respuesta inmune a un producto bioterapéutico relacionados con la interacción entre el producto y el huésped, siendo éstos dependientes de: la secuencia de los aminoácidos, la glicosilación, pureza, excipiente, estabilidad, dosis, vía de administración, intervalo de dosis y sistema inmune del huésped. Los mismos pueden clasificarse en factores relacionados con el producto o factores relacionados con el paciente/ receptor.

Aggregation of Post-Translationally Modified Monomer

(J. Philo and T. Arakawa Curr Pharm Biotech 2009)



Factores relacionados con el producto. Factores ligados al producto incluyen a) propiedades estructurales de las proteínas tales como diferencias estructurales entre la proteína exógena / endógena): su secuencia, la presencia de epitopes exógenos o endógenos, y el grado de glicosilación; b) alteraciones estructurales tales como la agregación, degradación-oxidación-deaminación, cambios

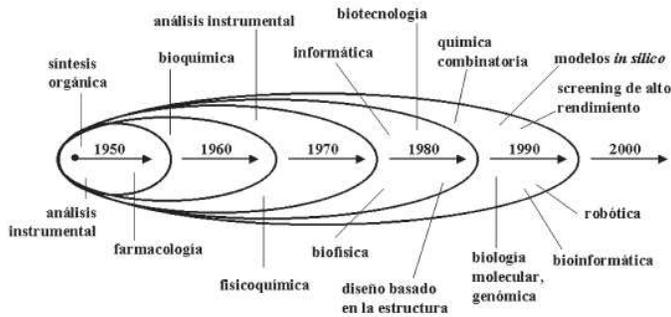
Conformacionales, exposición de antígenos y solubilidad. Ejemplos: mayor inmunogenicidad de producto interferón IFN β derivado de *Escherichia coli* comparado con el obtenido en células CHO (chinese hamster ovary) debido a la falta de glicosilación; c) formulación: cambios en la formulación han demostrado ser importantes en el desarrollo de la inmunogenicidad. Un caso emblemático ha sido el desarrollo de aplasia pura de células rojas mediada por anticuerpos (PRCA) observada en los Estados Unidos y otros países durante los años 1998 y 2002, asociada a la rotura de la tolerancia inmune al tratamiento con eritropoyetina de una marca comercial en particular, resultando en el desarrollo de anticuerpos neutralizantes no solo contra la proteína recombinante sino también en la EPO nativa. Años de estudio demostraron que la causa de este efecto había sido producido por el reemplazo de albúmina sérica humana como estabilizante (presente en la fórmula original) por glicina y polisorbato 80. La interrupción de la nueva formulación permitió disminuir los casos de PRCA; d) el almacenamiento (caso típico de Factor VIII); y e) los procesos de downstream y el nivel de impurezas o la presencia de contaminantes (caso de insulina y hormona de crecimiento).

Factores ligados al paciente/ receptor. a) la predisposición genética del paciente que influye en la producción de anticuerpos neutralizantes y secuencia genética que codifica el equivalente endógeno de la proteína terapéutica puede también cumplir un rol importante. En pacientes con Hemofilia A tratados con factor VIII se han observado diferentes posibilidades de desarrollar inmunogenicidad dependiendo de la expresión endógena de la proteína. Pacientes con delección genética de factor VIII reconocieron el mismo como extraño produciendo anticuerpos neutralizantes contra él. En contraste esto ocurre con menos frecuencia en pacientes con mutaciones genéticas en la proteína misma; b) enfermedades concomitantes tales como las renales o hepáticas pueden también influir en la inmunogenicidad. Las enfermedades autoinmunes predisponen a los pacientes a producir anticuerpos contra proteínas terapéuticas, c) dosis y vía de administración se consideran también factores determinantes: altas dosis o duración prolongada del tratamiento aumenta la exposición y por lo tanto el riesgo de desarrollar inmunogenicidad. De la misma manera se ha demostrado que el desarrollo de inmunogenicidad es mayor cuando se utilizan las vías sub-cutánea o intramuscular respecto a la vía intravenosa, y d) co-medición

B-CONSECUENCIAS E IMPLICANCIAS La aparición de inmunogenicidad, es un aspecto clave y puede derivar en consecuencias clínicas imprevisibles. Decíamos que las consecuencias de anticuerpos anti-producto pueden incluir pérdida parcial o completa de la eficacia del medicamento, una farmacocinética alterada o reacciones cruzadas con las proteínas endógenas del paciente. Esto último puede resultar en efectos adversos severos que pueden inclusive llevar a riesgo mortal. Algunos efectos adversos pueden tardar más de un año en aparecer, y aún pequeños cambios en el proceso de elaboración pueden tener consecuencias mayores a largo plazo. Las consecuencias inmunogénicas no deseadas pueden variar considerablemente, y ser desde clínicamente irrelevantes a graves y potencialmente mortales. Aunque los anticuerpos neutralizantes alteran directamente el efecto farmacodinámico de un producto (por ejemplo bloqueando directamente el sitio activo de la proteína), los anticuerpos de unión a menudo, afectan a la farmacocinética y como consecuencia pueden influir en la farmacodinamia. Por lo tanto, la alteración del efecto de un producto debida a la formación de anticuerpos anti-producto, puede ser consecuencia de una combinación de efectos farmacocinéticos, farmacodinámicos y de seguridad.

C-MÉTODOS Y ESTRATEGIAS PARA EL ESTUDIO, EVALUACIÓN Y PREDICCIÓN DE INMUNOGENICIDAD

La evaluación de inmunogenicidad de medicamentos bioterapeúticos es sin lugar a



dudas un aspecto sumamente importante a ser considerado tanto en el desarrollo del medicamento como así también al momento de su autorización y luego de su puesta en uso. En ese sentido el desarrollo de las nuevas generaciones de estos medicamentos, se ha visto favorecido por el progreso científico y el desarrollo tecnológico que se han incorporado

progresivamente a su evaluación, producción y control durante las últimas décadas como se observa en la figura adjunta.

- **ENSAYOS IN VITRO. ESTRATEGIAS BASADAS EN ANÁLISIS DE RIESGOS PARA LA DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA PRODUCTOS BIOTECNOLÓGICOS** El nuevo paradigma se encuentra basado en la ecuación:

$$\text{Riesgo} = \text{probabilidad (del daño)} \times \text{severidad (del daño)}$$

Mientras que la pregunta central es: que sucede con el paciente si desarrolla una respuesta inmune?, la probabilidad se relaciona con cuantos pacientes desarrollarán una respuesta inmune y la severidad considera la historia y número y la gravedad de los casos.

Factores involucrados con la Probabilidad

Menor probabilidad	Mayor probabilidad
Inmunosuprimidos	Autoinmune
Dosis única	Dosis crónica
Humanizados	Extraños
Vía endovenosa	Vía subcutánea
Libre de BSA	BSA
Mayor pureza	Presencia de impurezas
No agregados	Agregados

Factores involucrados con la Severidad

Menor severidad	Mayor severidad
Versión no endógena	Versión endógena
Actividad redundante	Actividad única
Otras terapias	Terapia única
Enfermedad no mortal	Enfermedad mortal
Enfermedad en estadio final	Enfermedad crónica
AE reversible	AE no reversible
No terapia de reemplazo	Terapia de reemplazo

Estrategias para la selección de métodos analíticos

Para definir estrategias en relación a la selección de los métodos analíticos a usar debemos preguntarnos: Cual es la sensibilidad de los ensayos?, Que datos obtenidos de los mismos son significativos desde el punto de vista clínico?, Que ensayos realizar?, necesidad de identificación de Ig subclases (IgM, todas la IgGs, IgE?), rol de ensayos neutralizantes, nivel de caracterización de la respuesta, consideración de la reactividad cruzada a moléculas endógenas similares, en caso de estar presentes, en qué momento efectuar el análisis de las muestras durante los ensayos clínicos (tiempos de ensayo)?, Análisis de la influencia de los resultados de los ensayos en el estudio clínico,

En el desarrollo de estrategias de análisis deben considerarse: Ensayos de screening que permitan identificar muestras positivas, ensayos confirmatorios para diferenciar falsos positivos y confirmar, ensayos de neutralización para distinguir anticuerpos neutralizantes. Resulta importante poder diferenciar anticuerpos neutralizantes de no neutralizantes en la medida que los anticuerpos neutralizantes tienen impacto sobre la eficacia, seguridad y farmacocinética, mientras que los anticuerpos no neutralizantes tienen impacto sobre la

La utilización de animales convencionales para el estudio de la capacidad inmunogénica tiene la limitación que, estos animales desarrollan respuestas inmunes contra todas las proteínas humanas independientemente de cómo las mismas se encuentren formuladas. En ese sentido uno de los avances más importantes en la investigación biomédica ha sido el desarrollo de animales transgénicos y de animales *knockouts* o genoprivos.

Ratones transgénicos (TG) y ratones knock out (KO). Un animal transgénico es aquel al que se le ha modificado su ADN y por tanto su información genética ya sea por introducción o por eliminación de un gen (fragmento de ADN que codifica la información para producir una proteína). Un animal knockout es aquel en el que la expresión de un gen propio ha sido eliminada por completo. Es así que, mientras la inserción de un gen de otro organismo nos permite obtener animales que producen proteínas que antes no producían, la eliminación un gen permitirá averiguar qué función desempeñaba la proteína que codificaba. Los TG contienen una o más copias de un transgen integrado en la célula de su organismo, lo que permite estudiar el efecto de su producto, normal o mutado. Un ejemplo de modelo TG es aquel diseñado para el estudio de neoplasias basado en la expresión de formas mutantes de c-myc. Por su parte, los KO son ratones en los que la expresión de un gen propio ha sido eliminada por completo generando así modelos murinos deficientes en una sola proteína como en el caso del modelo para hemofilia A deficiente en factor VIII.

Podemos observar entonces, que es posible diseñar animales modificados genéticamente para estudiar genes concretos a partir de la observación en el animal transgénico de las consecuencias "in vivo" de la modificación de su genoma: a) Con la introducción de un nuevo gen, creando un transgénico, b) Con la eliminación de un gen, creando un Knockout, c) Con la regulación de ese gen, ya sea aumentando su expresión, disminuyéndola o, incluso, suprimiéndola, mediante transgénicos, Knockouts y Knockins inducibles.

En términos generales las enfermedades de base genética son el resultado de la expresión incorrecta de los genes específicos que codifican para tales proteínas, entendiendo como "expresión incorrecta" no solamente a la expresión de proteínas de función anómala, sino también a la expresión de la proteína adecuada en el lugar equivocado (falla en la expresión histo-específica), a la expresión de la proteína adecuada a destiempo (falla en la expresión crono-específica) y a la expresión de la proteína adecuada en cantidades anormalmente altas o bajas. Podemos decir entonces que las mutaciones en las regiones codificantes del gen tendrán como resultado la formación de proteínas no funcionales o con su función alterada, mientras que las mutaciones en las regiones reguladoras del gen (resaltadores y promotor), alterarán el control transcripcional adecuado del gen en cuestión, dando como resultado modificaciones en la cantidad de proteína sintetizada (exceso o defecto), así como alteraciones de la histo-especificidad y crono-especificidad. Resulta por lo tanto necesario comprender la estructura y función de genes específicos y también la manera en que es controlada su expresión, tanto en el estado de salud como en el de enfermedad para tener un buen conocimiento de la enfermedad. Es así que la introducción de la transgénesis ha permitido estudiar no solo la progresión natural de varias enfermedades, sino también evaluar nuevas estrategias terapéuticas para muchas enfermedades humanas, de una forma imposible de realizar en seres humanos a partir del hecho que estas enfermedades pueden ser simuladas con animales.

Aún más ha permitido disponer de modelos animales que permiten evaluar el potencial antigénico de un medicamento de origen biotecnológico durante su etapa de desarrollo.

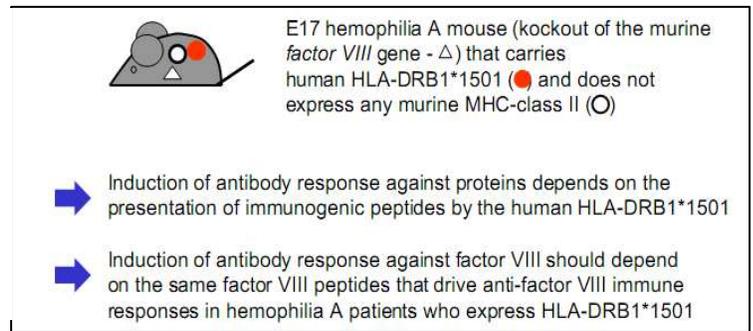
Actualmente existe una enorme variedad de "enfermedades simuladas" tales como modelos de tumores del sistema nervioso central, de enfermedad de Parkinson, de espondiloartropatías, de esquizofrenia, de esclerosis múltiple y de síndrome metabólico, entre muchas otras. Dos ejemplos típicos del uso de modelos animales no convencionales para la evaluación de inmunogenicidad son el Modelo de ratón inmunotolerante al interferon humano beta y el ratón knockout E17 para el estudio de la hemofilia A.

Modelo de ratón inmunotolerante al interferon humano beta (hIFNbeta) Se trata de un ratón transgénico (Ratón C57BP/6 para el gen hIFNbeta). Durante la evaluación de este nuevo modelo animal, el modelo convencional y el transgénico (nuevo modelo) fueron inmunizados con interferón humano recombinante beta

1a (rhIFNbeta-1a) e Interferón humano recombinante beta 1b (rhIFNbeta-1b) midiéndose anticuerpos contra rhIFNbeta por ELISA. Los resultados obtenidos permitieron concluir que el ratón genéticamente modificado mostró ser inmunotolerante para el rhIFN beta -1a derivado de células de mamíferos, el cual tenía una inmunogenicidad relativa en pacientes, mientras que el rhIFN beta-1b derivado de Escherichia coli, conocido como de inmunogenicidad relativamente alta en pacientes, demostró no solo ser inmunogénico en el ratón convencional sino que además pudo provocar la rotura de la inmunotolerancia del ratón genéticamente modificado. Estos resultados permitieron demostrar como los modelos animales ofrecen una posibilidad de estudiar los diferentes factores que pueden influir en la inmunogenicidad, y a su vez evaluar nuevas formulaciones previo a ser sometidos a estudios clínicos Este nuevo modelo proveyó además la primera evidencia que los rhIFNbetas diferían en sus mecanismos inmunológicos responsables del desarrollo de anticuerpos.

Modelos animales para el estudio de la hemofilia. El Ratón E17 Hemofilia A es un claro

ejemplo de cómo construir o diseñar un modelo animal de forma tal que permita evitar las dos principales limitaciones de los modelos animales convencionales. En ese sentido, este modelo 1) no genera anticuerpos contra la proteína humana y 2) dispone de sistema de inmunotolerancia para la proteína nativa humana, el cual ante la



administración de una proteína humana modificada que lleve nuevos epitopes (neoepitopes) solo genera anticuerpos contra esa proteína. Resumiendo, el Ratón E17 Hemofilia A, es un ratón knockout del gen murino Factor VIII que simula la hemofilia A severa en ratón. Lleva HLA-DRB1*1501 y no expresa ningún MHC-clase II de ratón, permitiendo expresar los elementos esenciales del sistema inmune y diferenciando entre factor VIII humano nativo y los Factores VIII humanos candidatos que pueden llevar neoepitopes para el sistema inmune humano (Utilidad; exclusión de candidatos de alto riesgo).



No obstante todo lo dicho, siempre deberá tenerse en cuenta que un modelo animal jamás podrá evitar la necesidad de utilizar seres humanos para la evaluación efectiva de la inmunogenicidad

-IN SILICO TESTING, MODELOS COMPUTACIONALES Y HERRAMIENTAS BIOINFORMATICAS

Muchos han sido los esfuerzos enfocados al estudio de inmunogenicidad durante el ciclo de desarrollo de producto a partir de la predicción, caracterización y detección temprana de la inmunoreacción inducida por el medicamento candidato. El objetivo es poder manejar los aspectos relacionados con la inmunogenicidad en las etapas tempranas de desarrollo para poder obtener proteínas terapéuticas mas seguras y de menor costo. Luego de varios años de estudio de los parámetros que influyen en la inmunogenicidad, la inmunoinformática ha demostrado ser una herramienta útil junto con las técnicas in vitro para predecir la inmunogenicidad potencial de proteínas terapéuticas candidatas.

Ensayos in silico para screening de inmunogenicidad y la clasificación de medicamentos candidatos según una escala de inmunogenicidad son ahora utilizados para comparar una proteína contra otra, de forma tal de seleccionar la mejor candidata para ser utilizada en el desarrollo preclínico y clínico, disminuyendo el riesgo de fallo en el estudio clínico debido a inmunogenicidad.

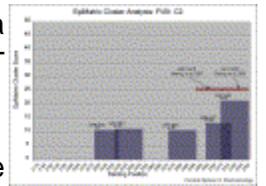
El screening de la secuencia parcial o completa de las proteínas candidatas permite identificar cuando una secuencia proteica puede contener regiones inmunogenicas potenciales (conocidos como cluster de epitopes) y a partir de ello obtener un mapeo que permita detectar aquellos aminoácidos individuales que contribuyen mayormente en el potencial inmunogenico del cluster.

Que nos permite la bioinformática? Los métodos in silico clásicos permiten realizar el screening de la secuencia proteica parcial o completa del producto candidato para identificar la presencia de epitopes T cell putativos, clasificar el potencial inmunogenico de cada una de esas secuencias según una escala estandarizada (escala de inmunogenicidad proteica), luego comparar cada proteína contra otras proteínas inmunogenicas y anticuerpos y seleccionar la proteína mejor candidata. En síntesis identificar clusters de epitopes a células T contenidas en el producto candidato, evaluar el potencial inmunogenico de cada uno de

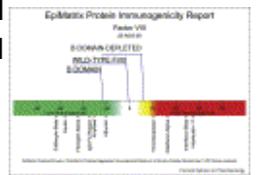
los cluster y clasificar el potencial inmunogenico de cada uno de esos cluster contra otros cluster conocidos según una escala estandarizada.

La nueva generación de métodos in silico permiten a partir de la detección de aminoácidos potenciales que aportan al potencial inmunogenico del cluster, seleccionar la proteína mejor candidata y eventualmente disminuir o “desinmunizar” la misma mediante métodos de modelación, a partir del uso de algoritmos seleccionar partes relevantes del receptor incluyendo la flexibilidad de las cadenas pesadas y livianas, y determinar afinidad de fijación y promiscuidad

Ejemplos de estas herramientas son los algoritmos como el EpiBase algoritmo in silico que permite predecir inmunoperfiles y el EpiBase IV para predecir inmunoperfiles celulares para caracterizar epitopes a células T a nivel de donante individual o de población. A modo de ejemplo: Análisis de FVIII C2 ClustiMer Mapeo de cluster para dominio C2 para análisis de FVIII Ce ClustiMer.. En el gráfico puede observarse la localización y potencial inmunogenico de cada cluster. La localización del cluster está indicado por el numero del aminoácido en el eje X y el ancho de la barra correlaciona con la longitud del cluster. La escala es mostrada en el eje Y, en la cual un score de 10 es indicativo de alta inmunogenicidad. La barra roja a la derecha indica de los dos epitopes para células T publicados.



Análisis de inmunogenicidad de la secuencia (Genbank) del FVIII humano mediante “EpiMatrix immunogenicity scale” El gráfico muestra el potencial inmunogénico basado en el contenido de epitopes a células T/ 10000 aminoácidos del FVIII de tipo nativo, FVIII depletado en dominio B y el dominio B en si mismo. El analisis sugiere que el FVII depletado en dominio B es igual o más inmunogenico que el nativo



CONCLUSIONES

La inmunogenicidad puede ser uno de los mayores obstáculos para la terapia exitosa a partir de medicamentos biotecnológicos. Los anticuerpos anti-producto pueden neutralizar la función terapéutica, influir en la farmacocinética y, en algunos casos dar lugar a efectos adversos severos pudiendo derivar en consecuencias clínicas severas. Los casos mas conocidos son los efectos adversos resultantes de la administración del Factor de crecimiento y diferenciación de megacariocitos y la aplasia pura de células rojas desarrollada en pacientes con fallo renal tratados con eritropoyetina recombinante ambos incidentes asociados a anticuerpos que neutralizaron las proteína producidas en forma endógena. Hemos visto que los factores asociados con el desarrollo de inmunogenicidad no deseada, pueden estar relacionados con el producto (propiedades estructurales y/o de fabricación) y/o con el paciente/ receptor del mismo (predisposición genética, dosis, vía de administración, régimen, enfermedades contaminantes, co-medicación). No hace falta recalcar que la evaluación de la inmunogenicidad es un aspecto clave y necesario para asegurar la eficacia y seguridad de un producto bioterapeutico, debiendo ser considerado durante las diferentes etapas de desarrollo del producto, así como en las fases preclínica, clínica, y luego en la etapa post comercialización a partir de un programa de Gestión de riesgos para garantizar la evaluación adecuada del perfil riesgo/beneficio incluyendo pruebas continuas de inmunogenicidad y control de farmacovigilancia. Muchos han sido los adelantos que han permitido estudiar y comprender el mecanismo de la inmunogenicidad, no obstante ello la predicción de su incidencia y la significancia clínica siguen problemáticos. Si bien los métodos vigentes mas prácticos y comunes para evaluar la inmunogenicidad continúan siendo aquellos que detectan, miden y caracterizan los anticuerpos producidos anti-producto, nuevas plataformas han sido desarrolladas y están siendo utilizadas para su evaluación, predicción y estudio, incluyendo nuevos modelos animales (a partir de la introducción de animales transgenicos, knockout, knockin) y modelos computacionales, bioinformaticos e in silico testing.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Therapeutic proteins may induce antibodies that inhibit their efficacy or have other serious biological effects.
 2. Directive 2004/27/CE du Parlement Européen et du Conseil, du 31 mars 2004 Directive 2001/83/EC, as amended by Directives 2003/63/EC and 2004/27/EC
 3. Guideline on Similar Biological Medicinal Products. CHMP/437/04 (CHMP adopted September 2005)
 4. Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-Derived Proteins as Active Substance: Quality Issues. EMEA/CHMP/ BWP/49348/05 (CHMP adopted February 2006)
 5. Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-Derived Proteins as Active Substance: Non-Clinical and Clinical Issues. EMEA/ CHMP/42832/05 (CHMP adopted February 2006)
 6. The FDA's assessment of follow- on protein products: a historical perspective. Woodcock J, Griffin J, y col. *Nature*, (6) 437-442, 2007.
 7. Biosimilars: it's not as simple as cost alone. Roger S, FRACP, Goldsmith D. *Journal of Clin Pharm Therap* 33, 459-464, 2008
 8. Biosimilars - Science, status, and strategic perspective. Kresse G. *Eur J Pharm Biopharm* (2009), doi:10.1016/j.ejpb. 2009.02.014
 9. Biosimilar therapeutics what do we need to consider? Huub Schellekens. *NDT Plus* (2009) 2 [Suppl 1]: i27-i36 doi: 10.1093/ndtplus/sfn177.
 10. On behalf of the WHO Informal Consultation Group1. WHO informal consultation on regulatory evaluation of therapeutic biological medicinal products held at WHO Headquarters, Geneva, 19e20 April 2007. Jeewon Joung A, James S, y col. *Biologicals* 36 (2008) 269e276.
 11. Critical evaluation of the safety of recombinant human growth hormone administration: statement from the Growth Hormone Research Society. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1868-1870, 2001
 12. Dominguez-Gil Hurlé, Suárez Martín. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Salamanca
 13. New Preparations Comprising Recombinant Human Growth Hormone: Deliberations on the Issue of Biosimilars. Ranke M. *Horm Res* 69:22-28, 2008.
 14. Development of a transgenic mouse model immune tolerant for human interferon Beta. Hermeling S, Jiskoot W, Crommelin D, Bornaes C, Schellekens H. Central Laboratory Animal Institute, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. Pharmaceutical Research, Volume 22, Number 6, 847-851, DOI: 10.1007/s11095-005-4578-z
 15. Transgenic animals: uses and limitations in the 21st century medicine Dr. Brian M. Cavagnari. *Arch. argent. pediatr.* v.108 n.4 Buenos Aires jul./ago. 2010
 16. Prediction of immunogenicity: *in silico* paradigms, *ex vivo* and *in vivo* correlates Anne S De Groot, Julie McMurry, Lenny Moise.
-