

Farmaco biologico/biotecnologico

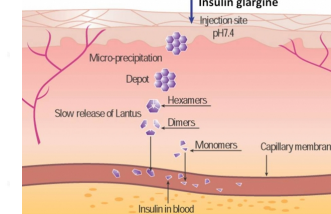
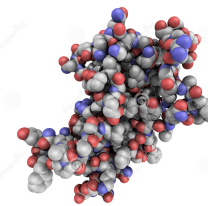
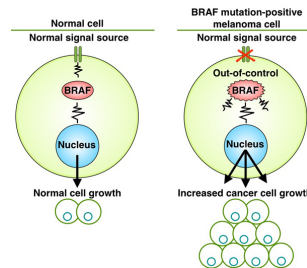
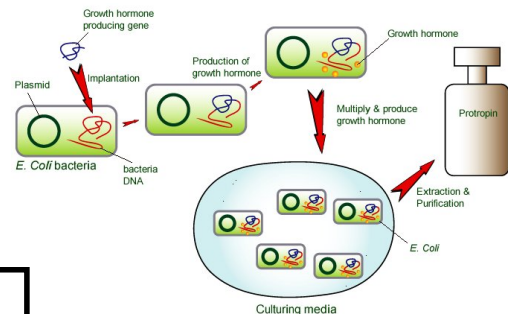
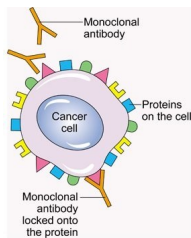
Farmaco il cui principio attivo è rappresentato da una sostanza (generalmente una proteina ad alto peso molecolare) prodotta **naturalmente** da un organismo vivente (microrganismi o cellule animali) (farmaco biologico propriamente detto) oppure farmaco derivante da una sorgente biologica attraverso l'utilizzo delle **tecniche del DNA ricombinante** (farmaci biotecnologici).



Farmaco biologico
Emoderivati,
immunoglobuline, vaccini
tradizionali



Farmaco biotecnologico
Anticorpi monoclonali,
vaccini ricombinanti



Vengono prodotti i primi anticorpi monoclonali

Ormone della crescita ricombinante (Humatrope)

Riscontrata mutazione BRAF nel melanoma

Viene autorizzato dall'EMA il primo biosimilare di somatropina

Viene autorizzato dall'EMA il primo biosimilare di insulina glargine

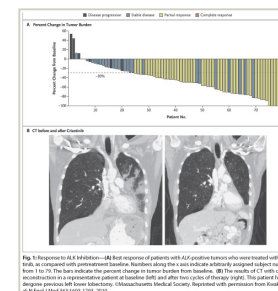
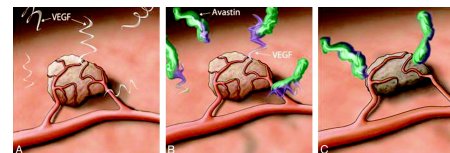
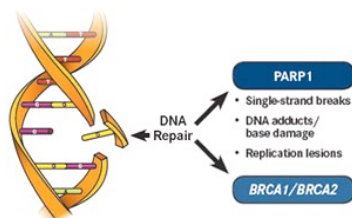
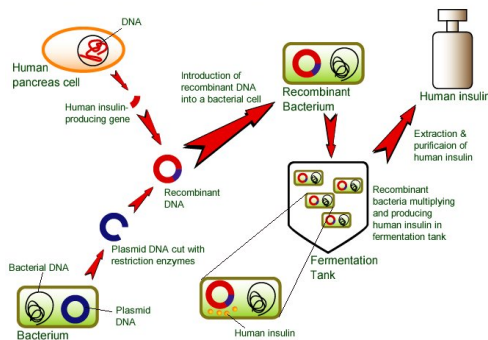
1979 1982 1987 1994-95 2002 2004 2006 2010 2014

Humulin, l'insulina umana prodotta da batteri geneticamente modificati è il primo farmaco biotecnologico ad essere approvato

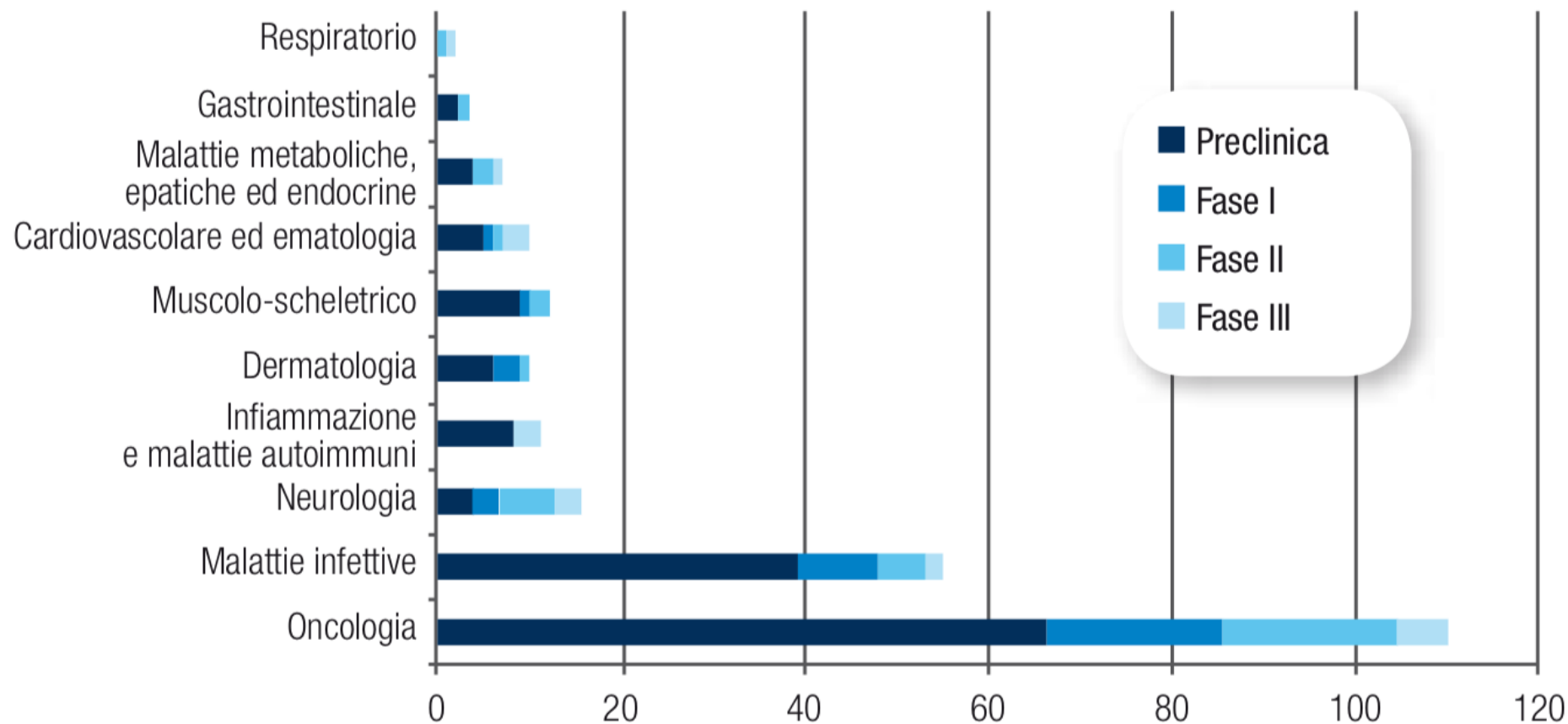
Identificati i geni di suscettibilità ai tumori mammari e ovarici BrCa1 e BrCa2

Viene approvato bevacizumab, primo farmaco antiangiogenesi

Crizotinib in ALK-NSCLC, tasso di risposta senza precedenti



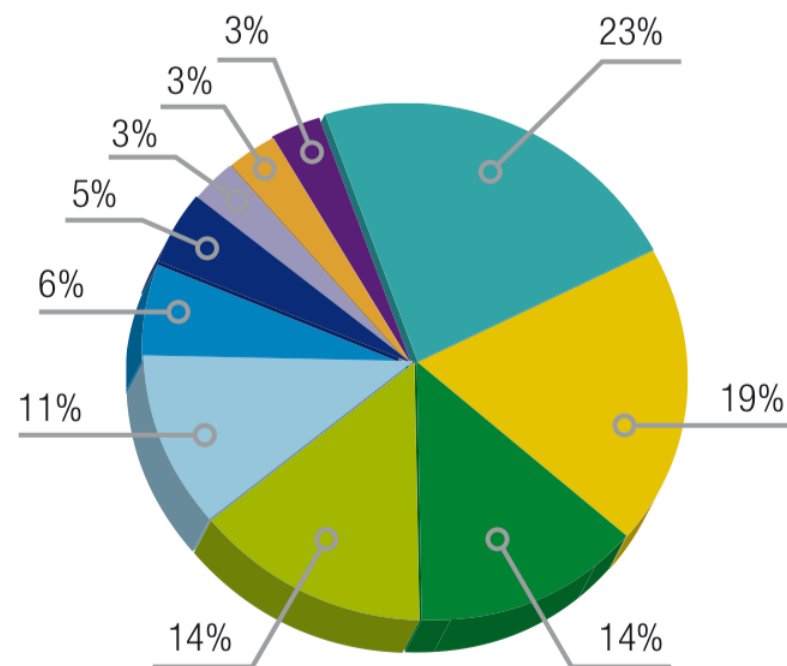
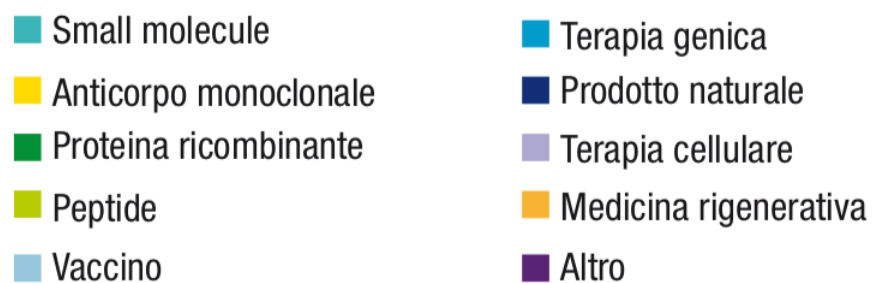
Analisi dei prodotti in sperimentazione per area terapeutica e fase di sviluppo



ENEA - Servizio Industria e Associazioni Imprenditoriali • Centro Studi Assobiotech®

Aprile 2018

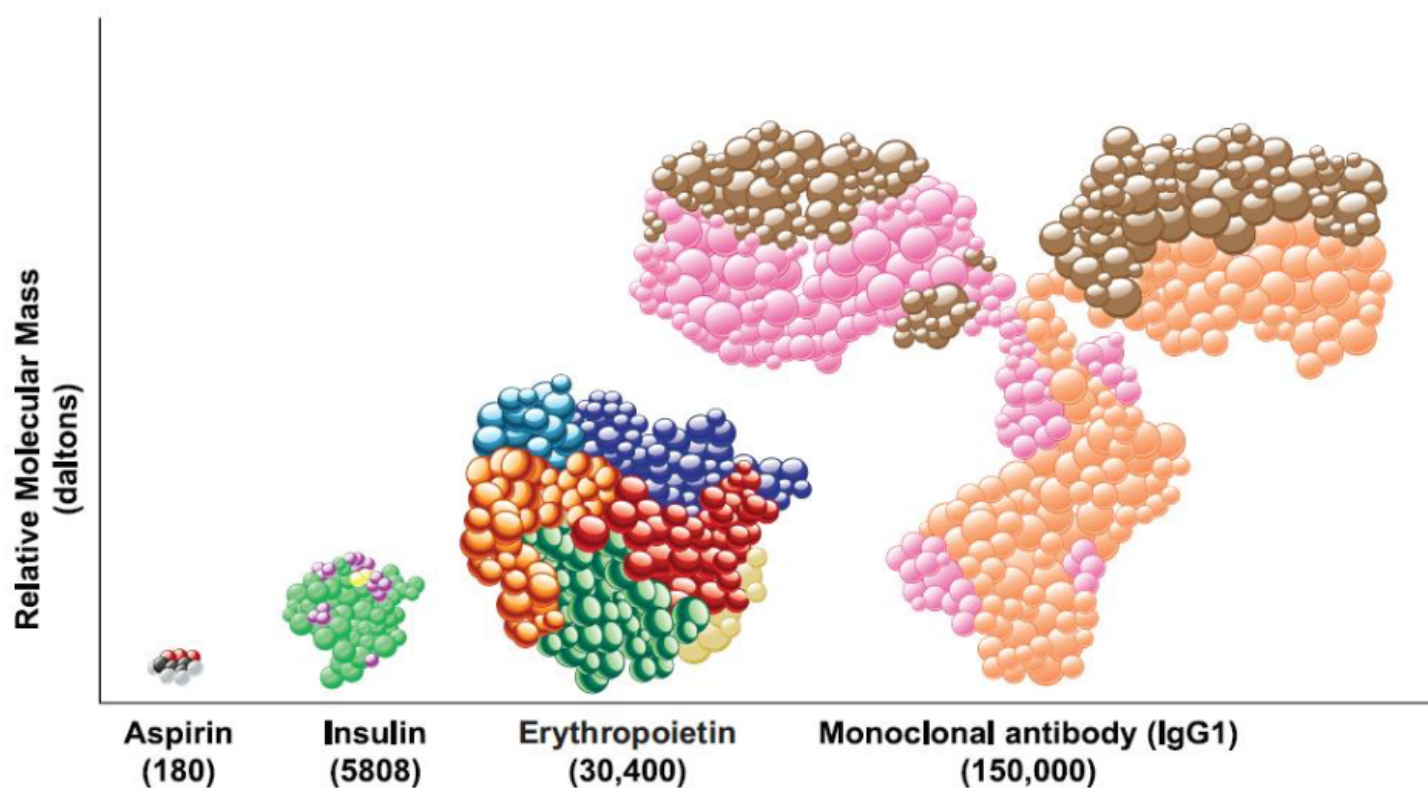
Analisi dei prodotti per tipologia



Farmaci di sintesi vs farmaci biologici

Farmaci di sintesi	Farmaci biologici
Prodotti attraverso sintesi chimica	Prodotti da colture cellulari
Basso peso molecolare	Alto peso molecolare
Struttura ben definita	Struttura complessa e eterogenea e talvolta non ben definita
Attività indipendente dal processo di produzione	Attività fortemente dipendente dal processo di produzione
Caratterizzato nella sua totalità	Impossibile caratterizzare completamente la composizione molecolare
Stabile	Non stabile
Non immunogenico	Immunogenico
Effetti multipli	Effetto specifico

Complessità dei farmaci biologici



Farmaci di sintesi vs farmaci biologici

Farmaci di sintesi	Farmaci biologici
Prodotti attraverso sintesi chimica	Prodotti da colture cellulari
Basso peso molecolare	Alto peso molecolare
Struttura ben definita	Struttura complessa e eterogenea e talvolta non ben definita
Attività indipendente dal processo di produzione	Attività fortemente dipendente dal processo di produzione
Caratterizzato nella sua totalità	Impossibile caratterizzare completamente la composizione molecolare
Stabile	Non stabile
Non immunogenico	Immunogenico
Effetti multipli	Effetto specifico

Eterogeneità dei farmaci biologici

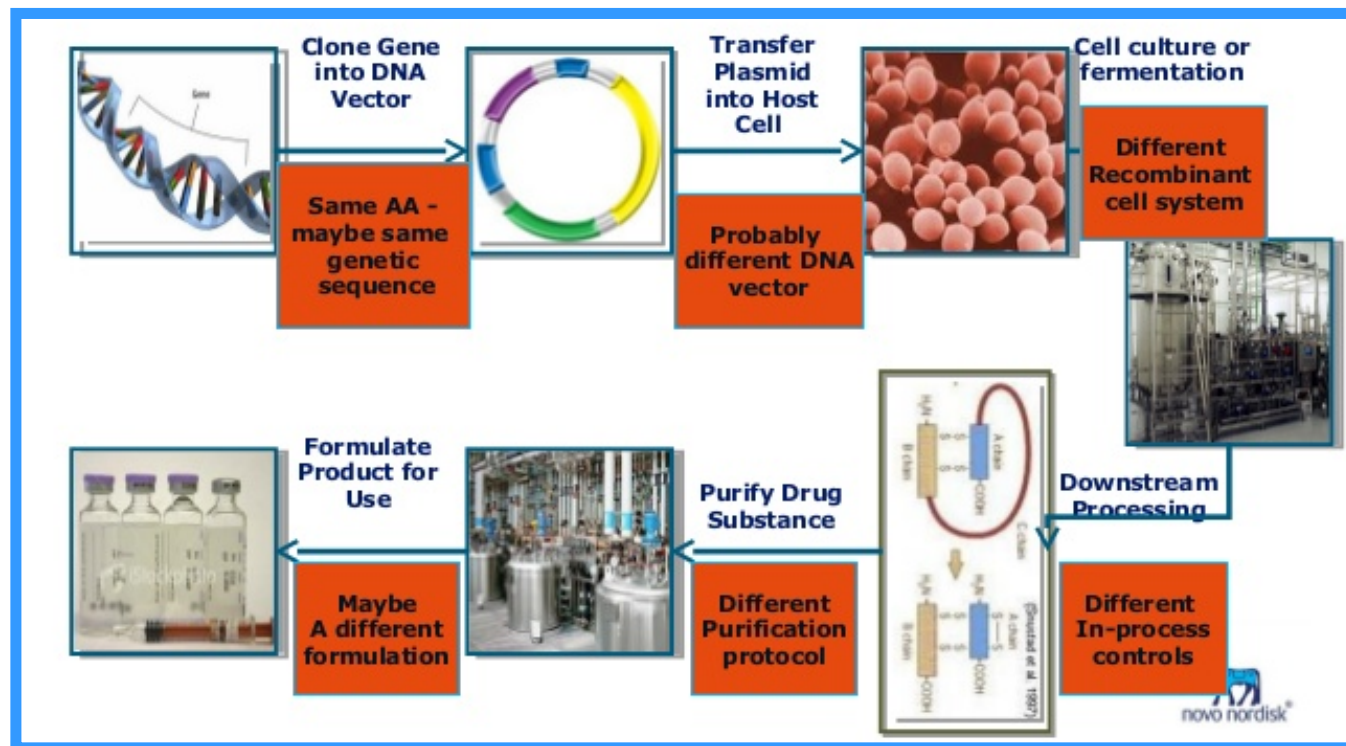
- Poiché sono prodotti da diversi tipi cellulari, possono presentare un gran numero di modificazioni:
 - Glicosilazioni: carboidrati si combinano con le proteine a formare glicoproteine
 - Proteolisi: degradazione diretta o digestione delle proteine
 - Acilazione: un atomo di idrogeno in un composto organico è sostituito da un gruppo acilico
 - Solfatazione: trasferimento di un sulfonato ad una proteina

Farmaci di sintesi vs farmaci biologici

Farmaci di sintesi	Farmaci biologici
Prodotti attraverso sintesi chimica	Prodotti da colture cellulari
Basso peso molecolare	Alto peso molecolare
Struttura ben definita	Struttura complessa e eterogenea e talvolta non ben definita
Attività indipendente dal processo di produzione	Attività fortemente dipendente dal processo di produzione
Caratterizzato nella sua totalità	Impossibile caratterizzare completamente la composizione molecolare
Stabile	Non stabile
Non immunogenico	Immunogenico
Effetti multipli	Effetto specifico

Il processo è il prodotto

A differenza dei farmaci tradizionali ottenuti per sintesi chimica, la struttura molecolare dei farmaci biologici è strettamente dipendente dal processo di produzione che può durare mesi e che comprende tappe complesse.



Farmaci di sintesi vs farmaci biologici

Farmaci di sintesi	Farmaci biologici
Prodotti attraverso sintesi chimica	Prodotti da colture cellulari
Basso peso molecolare	Alto peso molecolare
Struttura ben definita	Struttura complessa e eterogenea e talvolta non ben definita
Attività indipendente dl processo di produzione	Attività fortemente dipendente dal processo di produzione
Caratterizzato nella sua totalità	Impossibile caratterizzare completamente la composizione molecolare
Stabile	Non stabile
Non immunogenico	Immunogenico
Effetti multipli	Effetto specifico

Proteine terapeutiche

Biofarmaci naturali	Proteine di origine estrattiva prodotte per uso clinico
Farmaci biotecnologici Prima generazione	Proteine native prodotte con la tecnica del DNA ricombinante
Seconda generazione	Proteine naturali modificate (mutazione di un singolo o pochi a.a., iper glicosilazione, peghilazione...) che mantengono la stessa attività biologica ma hanno un migliorato profilo di efficacia/tollerabilità o un profilo farmacocinetico più idoneo.
Terza generazione	Proteine altamente modificate (mutazioni di molti anticorpi, chimere) per ottenere molecole con attività anche differenti dalla proteina naturale.

Problemi dei biofarmaci naturali

- prodotti naturalmente da un organismo vivente
 - Difficoltà di estrazione
 - La somministrazione di ormoni da animali (insulina) poteva causare l'attivazione di una risposta immune
 - Pericolo di trasmissione di agenti infettivi tra specie o individui (malattia di Creutzfeldt-Jakob in pazienti trattati con ormone della crescita umano)

Proteine terapeutiche

Biofarmaci naturali	Proteine di origine estrattiva prodotte per uso clinico
Farmaci biotecnologici Prima generazione	Proteine native prodotte con la tecnica del DNA ricombinante
Seconda generazione	Proteine naturali modificate (mutazione di un singolo o pochi a.a., oppure iper glicosilazione, pegilazione...) che mantengono la stessa attività biologica ma hanno un migliorato profilo di efficacia/tollerabilità o un profilo farmacocinetico più idoneo.
Terza generazione	Proteine altamente modificate (mutazioni di molti aa, chimere) per ottenere molecole con attività anche differenti dalla proteina naturale (ancora in fase di ricerca)

- I farmaci biotecnologici di prima generazione sono semplici copie di proteine umane prodotte attraverso la trasfezione del gene umano in un appropriato sistema di espressione ma....
- Problemi intrinseci delle proteine
 - Scarsa stabilità
 - Tendenza all'aggregazione
- Problemi farmacocinetici
 - Breve $t_{1/2}$
 - Scarso o nullo assorbimento
- Problemi farmacodinamici
 - Bassa affinità
 - Scarsa selettività
- Immunogenicità

Proteine terapeutiche

Biofarmaci naturali	Proteine di origine estrattiva prodotte per uso clinico
Farmaci biotecnologici Prima generazione	Proteine native prodotte con la tecnica del DNA ricombinante
Seconda generazione	Proteine naturali modificate (mutazione di un singolo o pochi a.a., oppure iper glicosilazione, pegilazione...) che mantengono la stessa attività biologica ma hanno un migliorato profilo di efficacia/tollerabilità o un profilo farmacocinetico più idoneo.
Terza generazione	Proteine altamente modificate (mutazioni di molti aa, chimere) per ottenere molecole con attività anche differenti dalla proteina naturale (ancora in fase di ricerca)

Proteine terapeutiche

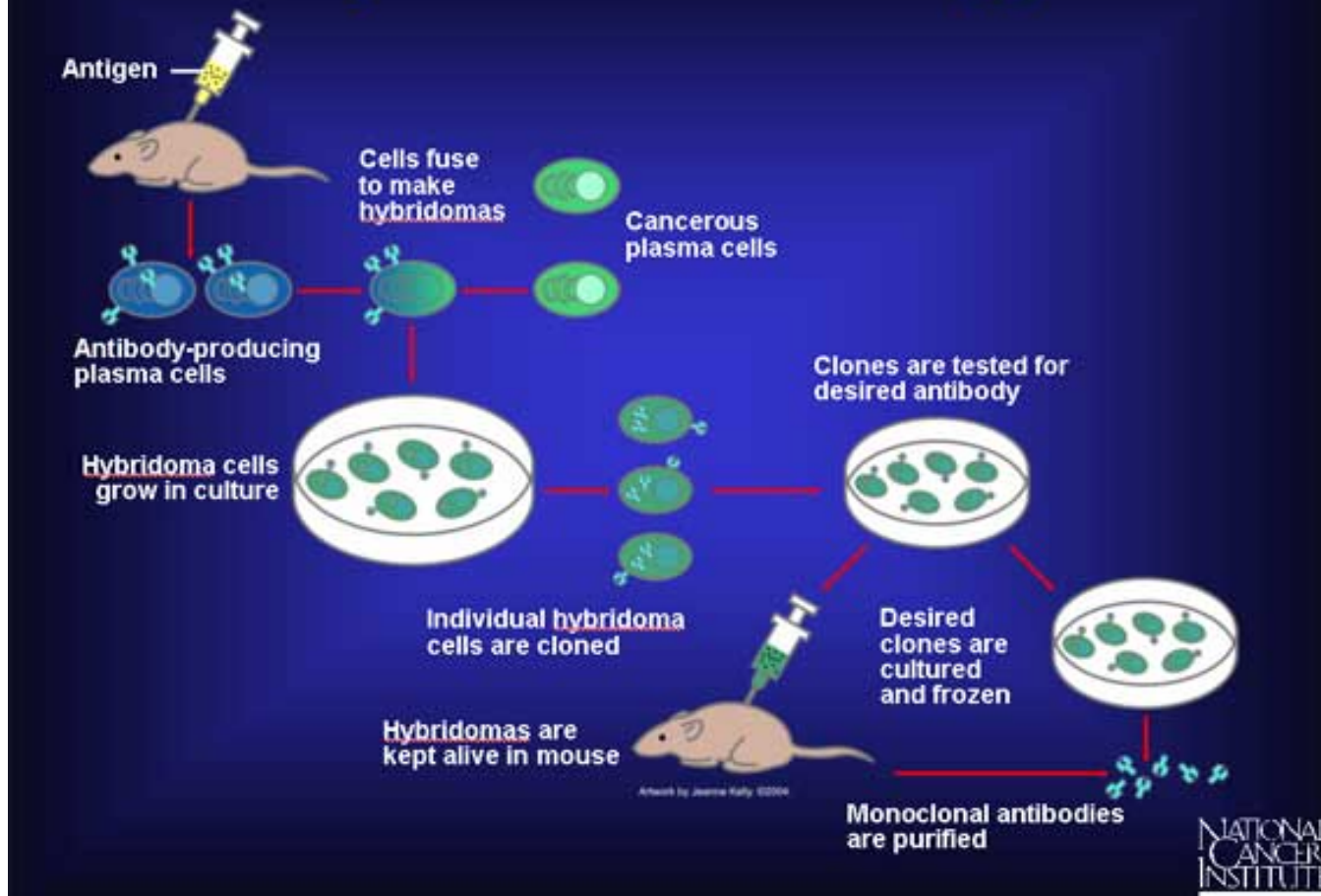
Biofarmaci naturali	Proteine di origine estrattiva prodotte per uso clinico
Farmaci biotecnologici Prima generazione	Proteine native prodotte con la tecnica del DNA ricombinante
Seconda generazione	Proteine naturali modificate (mutazione di un singolo o pochi a.a., oppure iper glicosilazione, pegilazione...) che mantengono la stessa attività biologica ma hanno un migliorato profilo di efficacia/tollerabilità o un profilo farmacocinetico più idoneo.
Terza generazione	Macromolecole (compresi acidi nucleici e proteine altamente modificate, mutazioni di molti aa, chimere) con attività anche differenti dalla proteina naturale (ancora in fase di ricerca)

Farmaci biologici/biotecnologici disponibili in commercio

- Anticorpi monoclonali (adalimumab, rituximab, ranibizumab, trastuzumab, panitumumab, certolizumab, golimumab, infliximab, canakinumab, tocilizumab, cetuximab, bevacizumab, omalizumab, natalizumab, palivizumab, ustekinumab, brentuximab vedotin, pertuzumab, eculizumab)
- Inibitori delle tirosin-chinasi (sorafenib, sunitinib, imatinib, regorafenib, erlotinib)
- Citochine e loro antagonisti recettoriali (interferone-alfa, aldesleukin)
- Proteine di fusione (etanercept, aflibercept, abatacept)
- Ormoni (insulina, eritropoietina, somatotropina)
- Fattori di crescita (G-CSF)
- Fattori della coagulazione
- Vaccini (tradizionali e ricombinanti) (vaccino anti-epatite B, anti-HPV)
- CAR-T

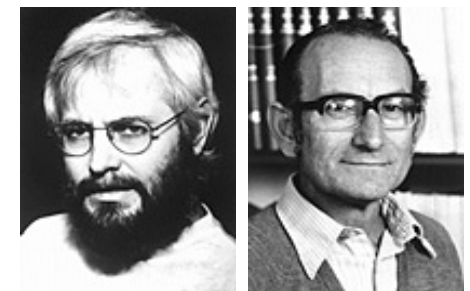
Anticorpi monoclonali

Hybridoma Technology



1984 – premio
Nobel per la
medicina

Kohler & Milstein



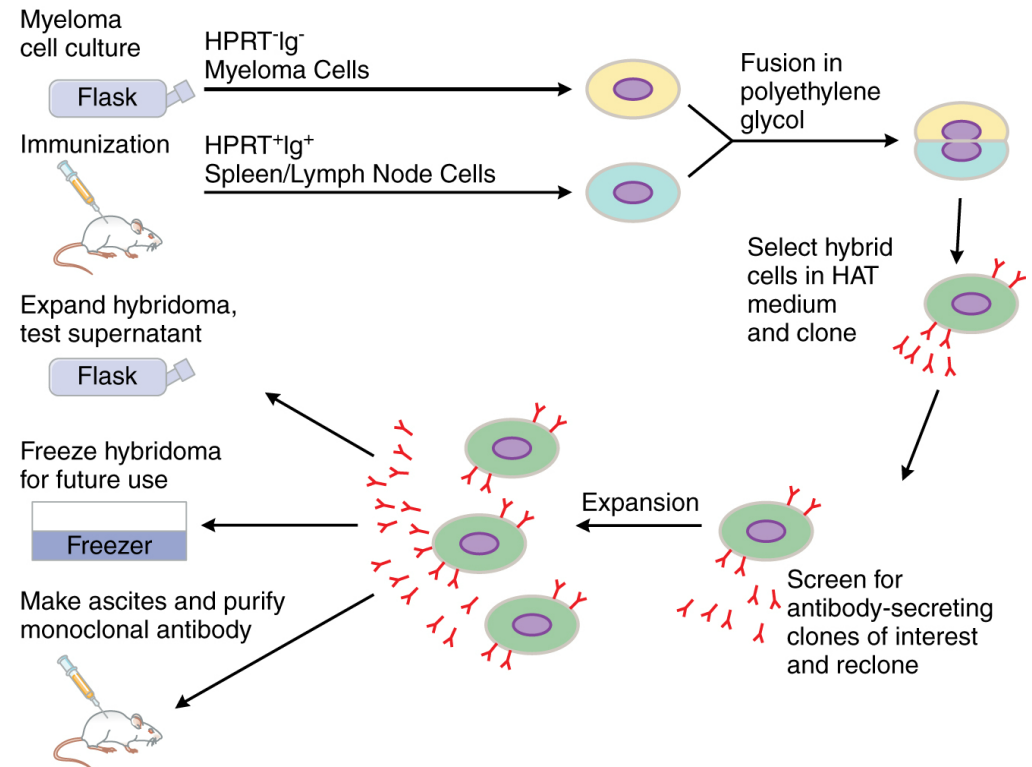
Kohler & Milstein

“Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity”

Nature. 1975 Aug 7;256(5517):495-7

Produzione di anticorpi monoclonali tecnologia dell'ibridoma

- Iperimmunizzazione dell'animale con l'antigene.
- Prelievo delle cellule B (dalla milza) e fusione con linee tumorali (es. mieloma).
- Selezione delle cellule su un terreno di crescita specifico (HAT medium).



L'HAT medium fa sì che solo le cellule in cui è avvenuta la fusione sopravvivano: il risultato è

la selezione di cloni cellulari IMMORTALIZZATI
che producono costantemente
anticorpo diretto contro l'antigene di interesse.

Terreno di cultura HAT (ipoxantina - amminopterina - timidina)

Amminopterina e' un inibitore della sintesi *de novo* delle purine = la sua presenza nel mezzo inibisce questo processo per cui le cellule dipendono dalle purine presenti nel mezzo e dalla "salvage" pathway per la loro sopravvivenza.

Timidina consente la produzione dei nucleotidi timidinici.

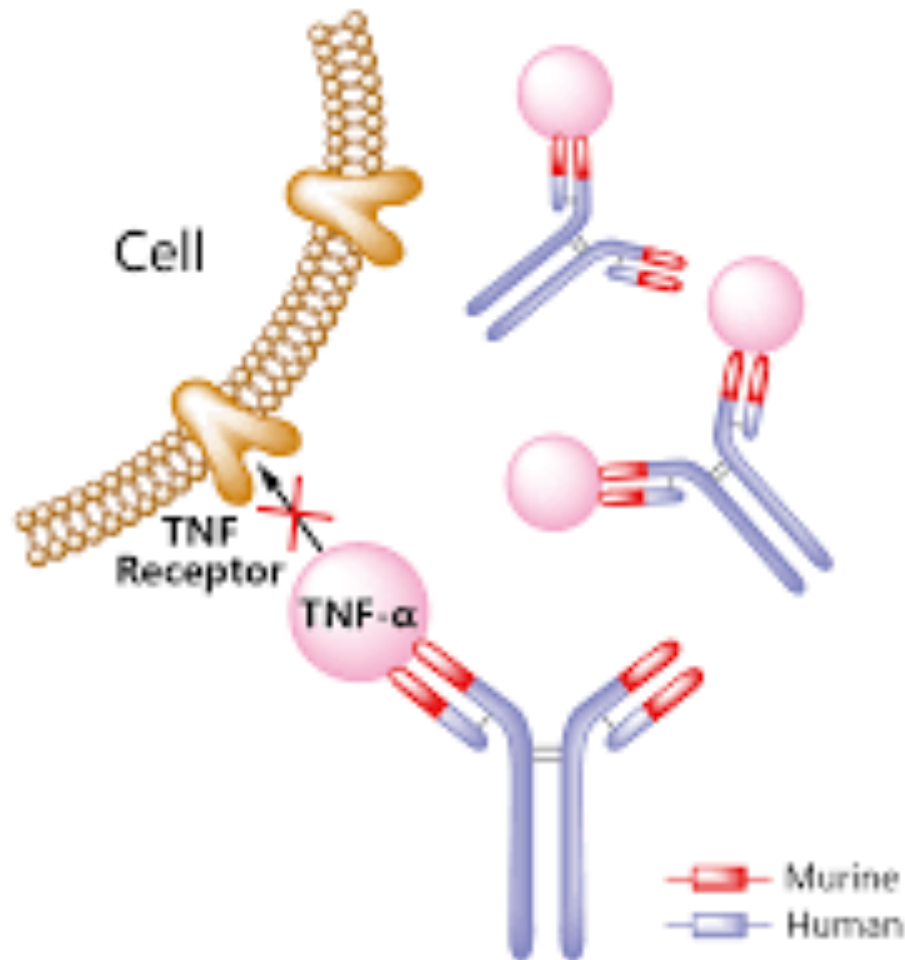
Ipoxantina consente la produzione dei nucleotidi guaninici da parte degli splenociti/linfociti B, degli ibridomi ma non delle cellule di mieloma che muoiono. Gli splenociti/linfociti B muoiono comunque in coltura nel giro di 7-10 giorni.

Sopravvivono nel mezzo HAT solo gli **ibridomi** in quanto possono utilizzare l' ipoxantina come sorgente di nucleotidi guaninici (componente dello splenocita) e possono sopravvivere per lungo tempo in coltura (componente del mieloma).

Anticorpi terapeutici ottenuti con la tecnologia dell'ibridoma

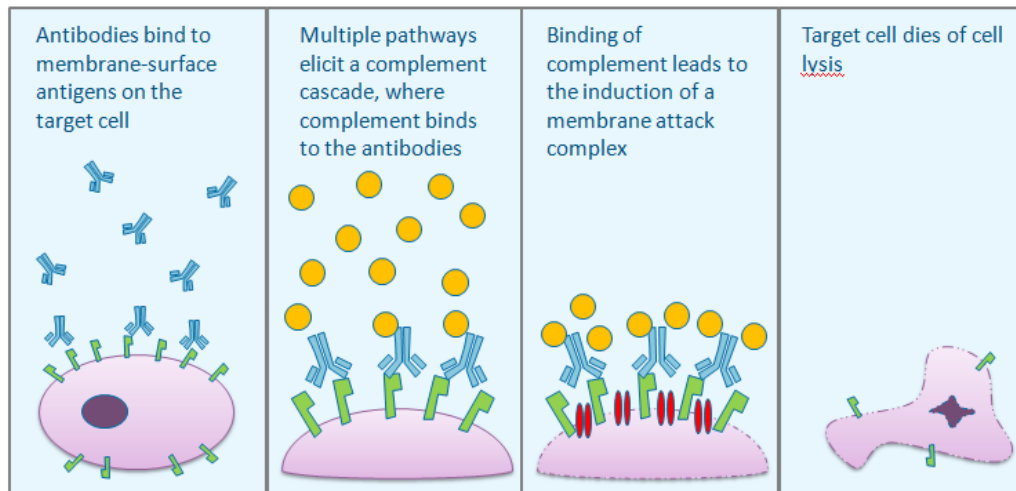
- Ha reso possibile l'ottenimento di grandi quantità di anticorpi specifici per un determinato antigene.
- Storicamente, il primo anticorpo monoclonale il cui uso è stato autorizzato nei pazienti è un anti-CD3 dei linfociti T, **MUROMONAB** o **ortoclone OKT3**, per trattare il rigetto acuto dopo trapianto di rene.
- L'uso prolungato di anticorpi murini nei pazienti determina l'insorgenza di sindromi "allergiche" caratterizzate da rigonfiamento delle articolazioni, eruzioni ed insufficienza renale.
- La produzione viene interrotta nel 2010

Meccanismi con cui gli anticorpi inducono gli effetti terapeutici

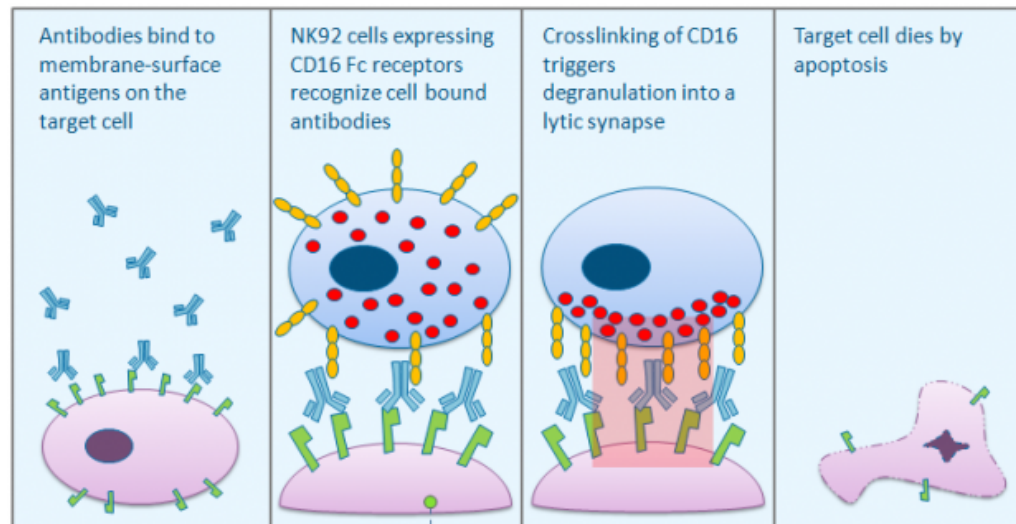


Modulazione diretta
dell'antigene bersaglio =
terapie anti-TNFα o anti-IgE

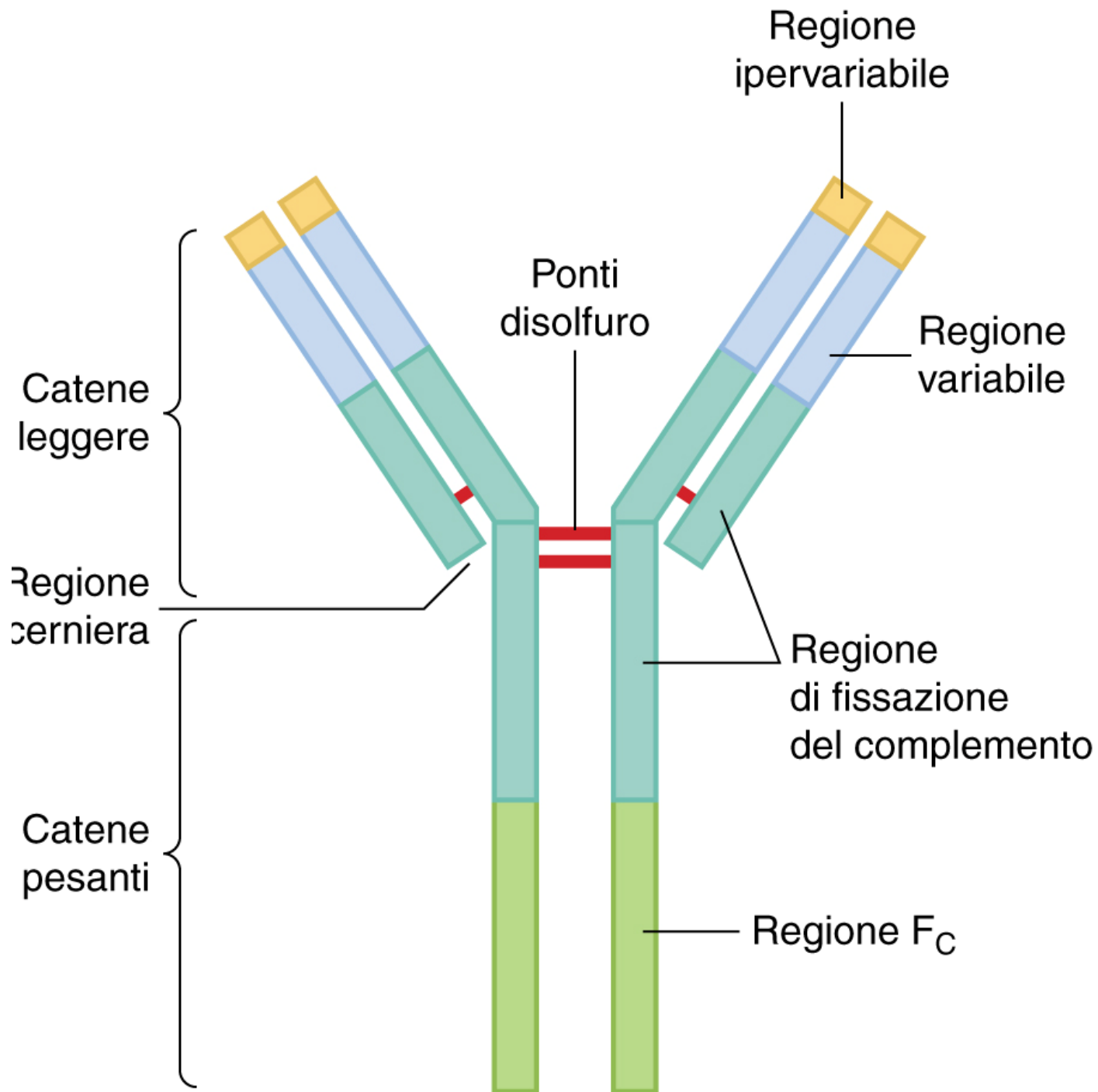
Meccanismi con cui gli anticorpi inducono gli effetti terapeutici



Azione citotossica mediata dal complemento (CDCC)



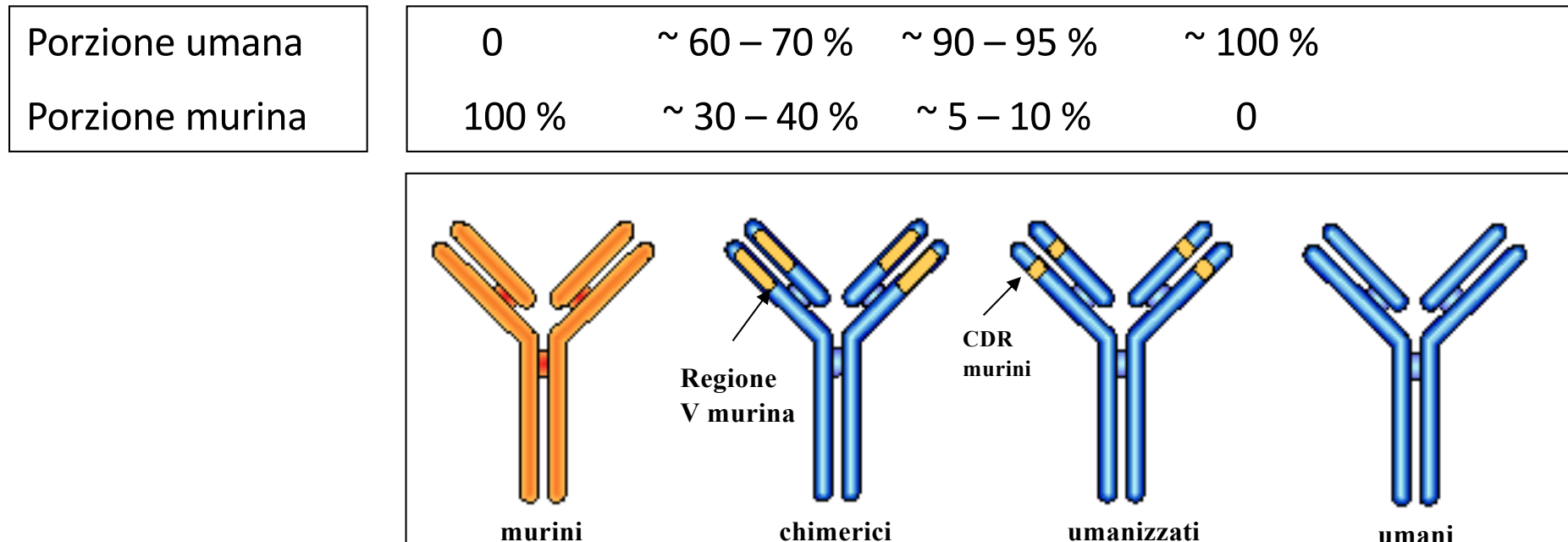
Azione citotossica mediata da cellule (ADCC)



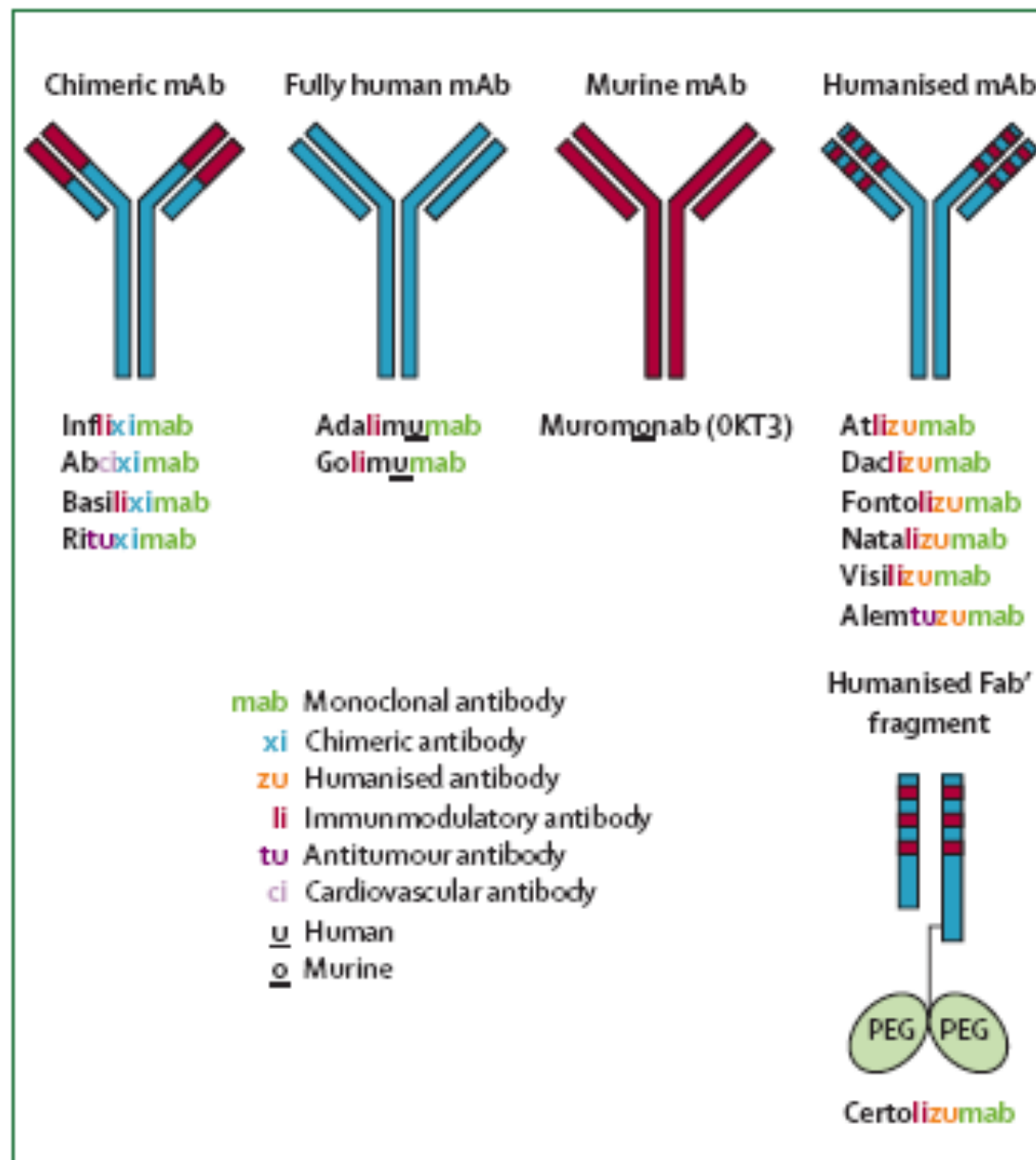
Il tentativo di generare anticorpi monoclonali umani impiegando la tecnologia dell'ibridoma non ha avuto pieno successo in quanto mancano linee cellulari di mieloma umano e gli ibridomi risultanti sono instabili.

Negli ultimi 30 anni diversi approcci sono stati ideati in modo da "umanizzare" gli anticorpi murini.

- Anticorpi monoclonali murini mediante la tecnologia dell'ibridoma
- Anticorpi chimerici (70% DNA umano) e umanizzati (95% DNA umano)
- Anticorpi completamente umani, utilizzando animali transgenici con i loci delle immunoglobuline umane.

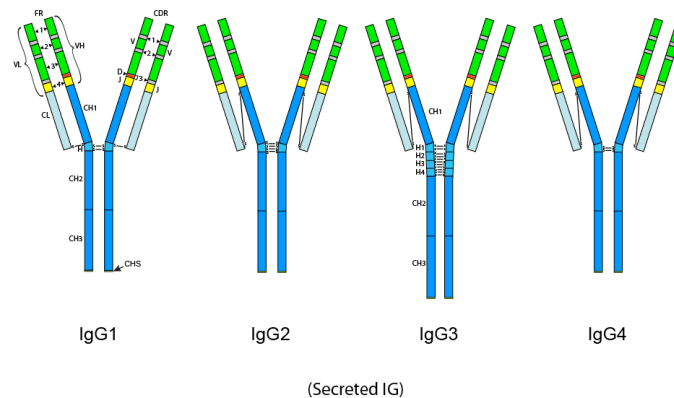


Anticorpi monoclonali: nomenclatura



da Baumgart & Sandborn, Lancet 2007

Human IgG class and subclasses



IgG subclass	Percentage in serum	Half life (days)	Binding affinity for FcγRIIa	Complement activation
IgG1	66	~21	+++	++
IgG2	23	~21	+/-	+
IgG3	7	~7	+++	+++
IgG4	4	~21	+ to -	-

IgG1: la sottoclasse più utilizzata, soprattutto quando si vuole una citotossicità cellulo mediata (oncologia)

IgG2 e IgG4, non mediano la citotossicità, vengono scelti quando si vuole evitare la morte cellulare.

La complessità delle proteine

- Strutture molto grandi e instabili
- Struttura che si mantiene conformata con forze di legame molto deboli
- Facile denaturazione anche in condizioni non aggressive
- Facilmente eliminate e distrutte dall'organismo

Farmacocinetica dei farmaci proteici e peptidici: **assorbimento**

Cause della scarsa biodisponibilità orale dei farmaci proteici e peptidici

- Degradazione nel tratto gastrointestinale :
pepsine (stomaco), tripsina, chimotripsina, elastasi, carbossipeptidasi A e B (tenue),
proteasi citoplasmatiche e di membrana degli enterociti
- Scarsa permeabilità

Vie di somministrazione dei farmaci proteici

- Endovenosa (infliximab Remicade®...)
- Intramuscolare
- Sottocutanea (anakinra Kineret®, etanercept Enbrel®, adalimumab Humira®, insuline...)
- Intravitreale (ranibizumab Lucentis®, bevacizumab Avastin)
- Le proteine somministrate per via s.c. vengono assorbite attraverso i capillari se piccole, attraverso i vasi linfatici se più grandi (> 16 kDa)

Distribuzione dei farmaci proteici e peptidici

- Il volume di distribuzione apparente è di solito relativamente piccolo
- Per i farmaci somministrati per via endovenosa è di solito uguale o appena maggiore del volume totale del plasma

Proteina	Peso molecolare (kDa)	Vd (l)
Eritropoietina	30,4	2,8 - 3,5
Anticorpi monoclonali	150	5,6

Eliminazione

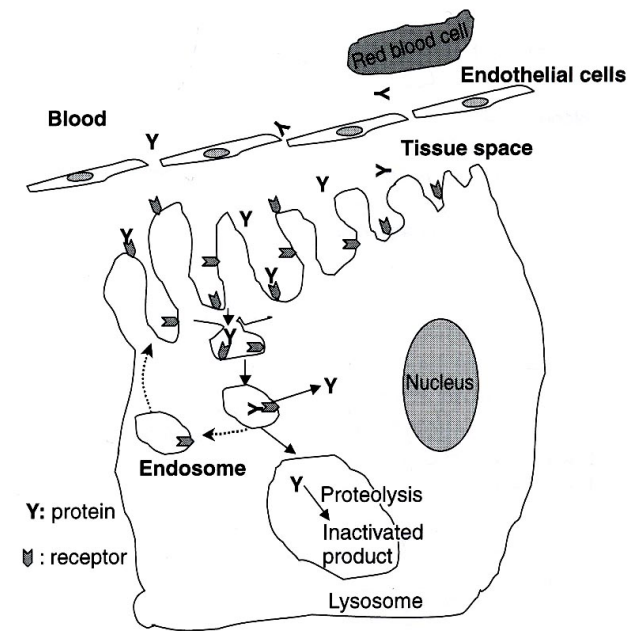
Molecular weight	Elimination site	Predominant elimination mechanisms	Major determinant
< 500	Blood, liver	Extracellular hydrolysis Passive lipid diffusion	Structure, lipophilicity
500–1,000	Liver	Carrier-mediated uptake Passive lipid diffusion	Structure, lipophilicity
1,000–50,000	Kidney	Glomerular filtration and subsequent degradation processes (see Fig. 4)	Molecular weight
50,000–200,000	Kidney, liver	Receptor-mediated endocytosis	Sugar, charge
200,000–400,000		Opsonization	α_2 -macroglobulin, IgG
> 400,000		Phagocytosis	Particle aggregation

Note: Other determining factors are size, charge, lipophilicity, functional groups, sugar recognition, vulnerability for proteases, aggregation to particles, formation of complexes with opsonization factors, etc. Mechanisms may overlap and endocytosis may occur at any molecular weight range.
Source: After Meijer and Ziegler, 1993.

Table 1 ■ Molecular weight as major determinant of the elimination mechanisms of peptides and proteins.

Metabolismo epatico dei farmaci proteici e peptidici

- Entrano negli epatociti per endocitosi mediata da recettore (insulina, epidermal growth factor, glicoproteine)
- Vengono metabolizzate all'interno degli epatociti nei lisosomi (endopeptidasi poi esopeptidasi)

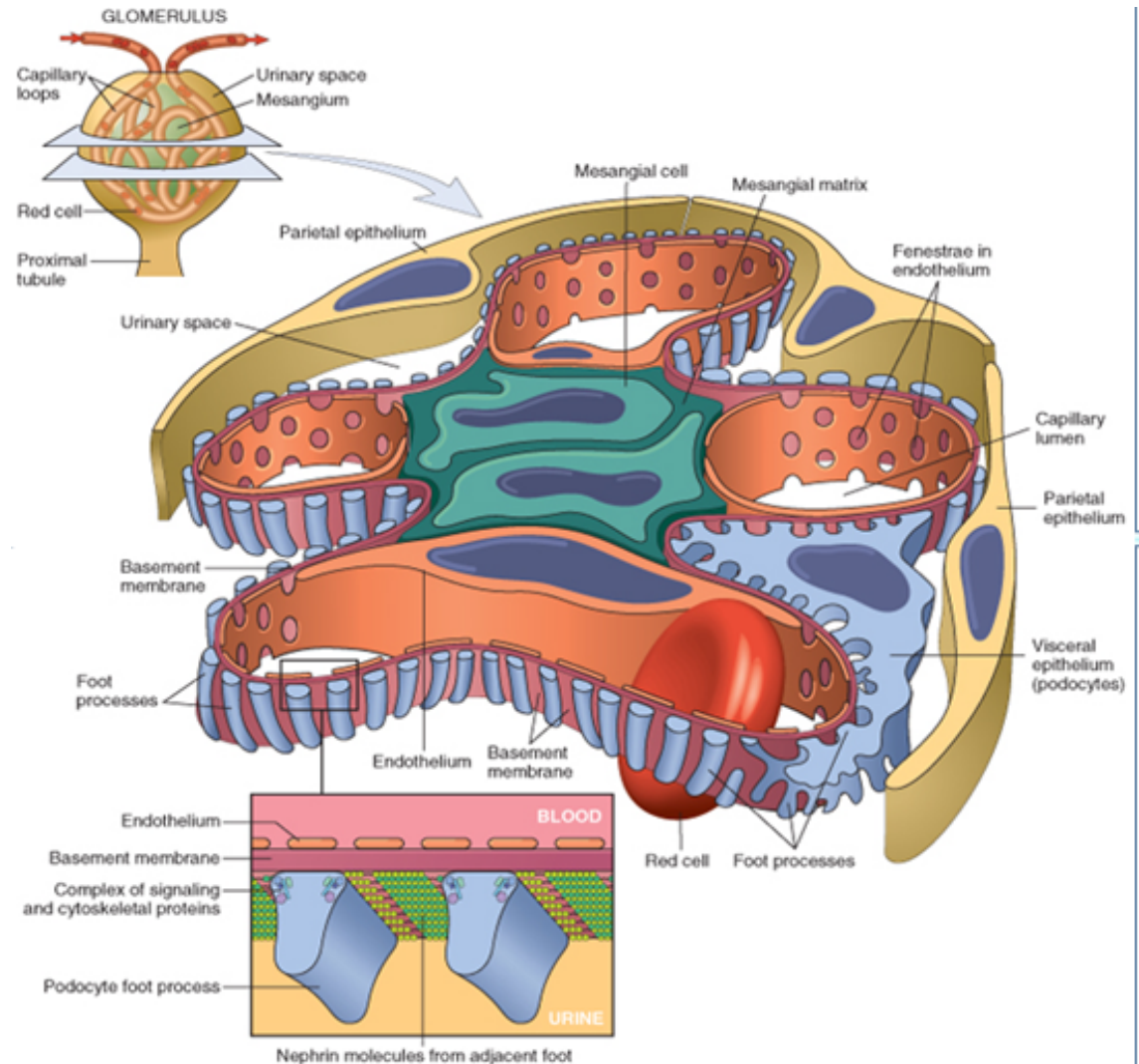


Eliminazione recettore mediata ad opera di altre cellule

- Per alcune molecole proteiche (> 200 kDa) è importante la fagocitosi mediata da recettore da parte di cellule specializzate, seguita dal catabolismo intracellulare
 - M-CSF (fattore di stimolazione delle colonie di macrofagi) e G-CSF (fattore di stimolazione delle colonie di granulociti) vengono captati dal midollo osseo tramite un processo recettore mediato e soggetto a saturazione

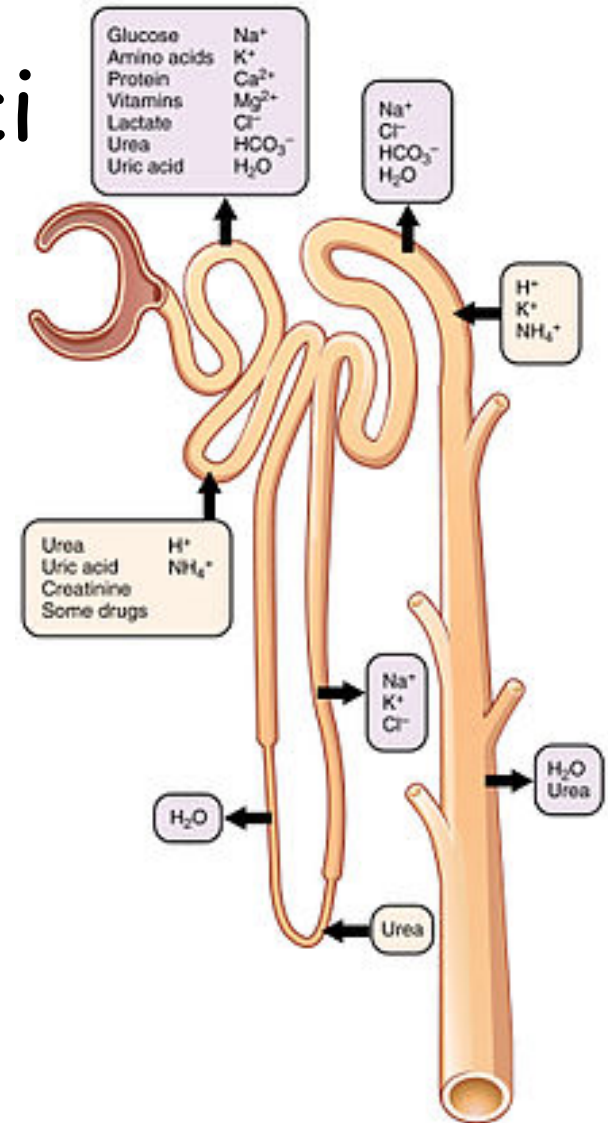
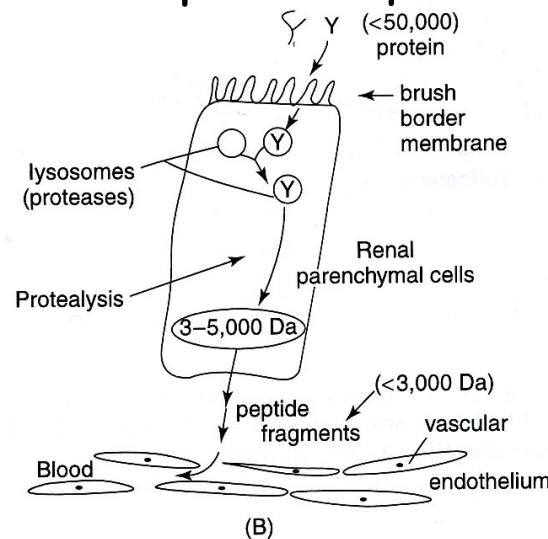
Escrezione renale dei farmaci proteici e peptidici

- Il rene è l'organo più importante nell'eliminazione delle molecole proteiche di piccole dimensioni (< 40 - 50 kDa) che vengono ultrafiltrate dal glomerulo



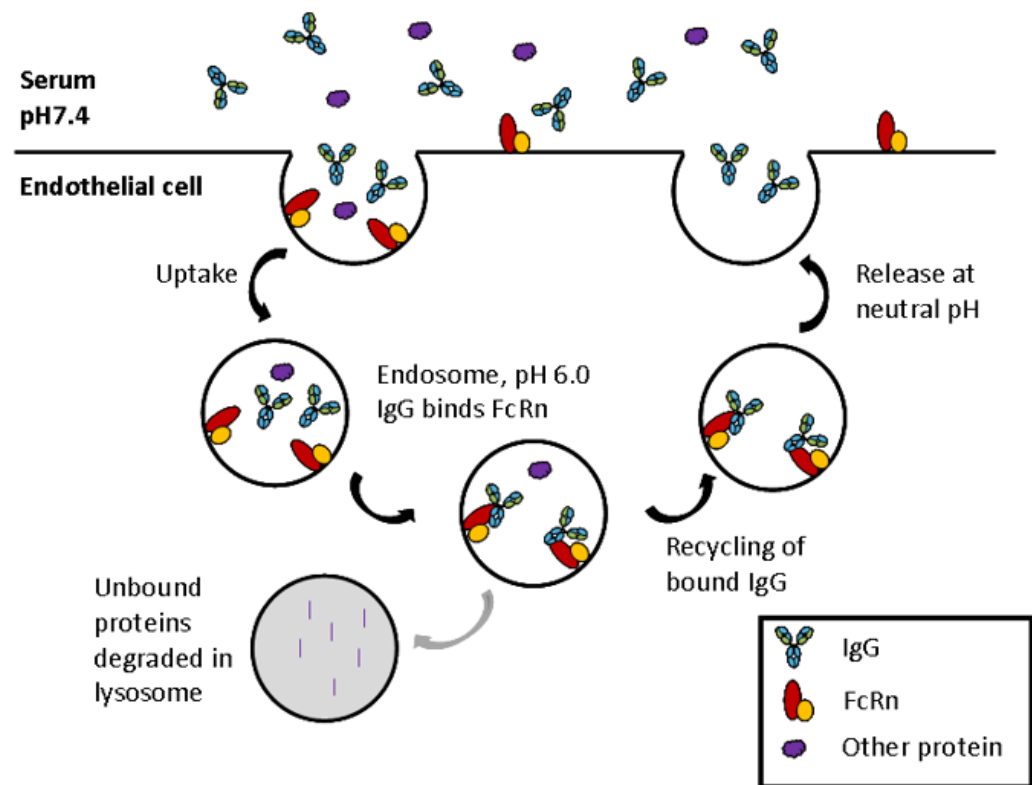
Escrezione renale dei farmaci proteici e peptidici

- riassorbiti dal tubulo prossimale per endocitosi e quindi degradati all'interno della cellula a piccoli peptidi e aminoacidi
- metabolizzati dalle esopeptidasi intraluminali nel tubulo prossimale; i frammenti sono riassorbiti da trasportatori di membrana (PEPT2)
- il metabolismo renale è importante per interleuchine, interferoni, TNF α , CSF
- Nell'urina si rilevano solo piccole quantità di proteina intatta



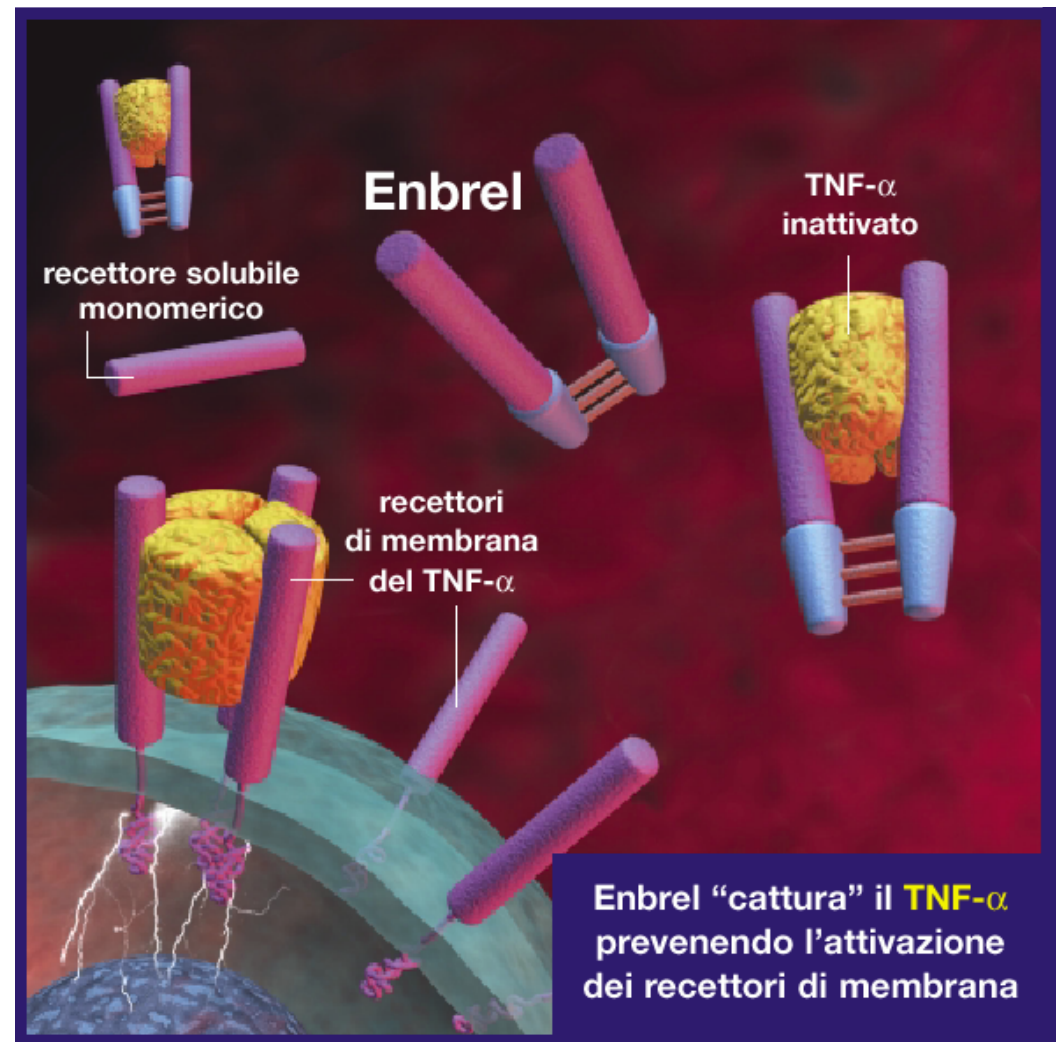
L'emivita delle IgG è relativamente lunga

- Il tempo di emivita di un anticorpo nel plasma è molto lungo anche per la proprietà delle IgG di legare delle proteine specifiche per Fc (FcRn o recettore di Brambell). Questa interazione stabilizza le IgG e previene la loro degradazione nel plasma.
- FcRn è un eterodimero di una catena alfa di 50 kDa ed una beta di 18 kDa chiamata beta 2-microglobulina.
- Il meccanismo molecolare con cui il recettore di Brambell protegge gli anticorpi comprende il legame a livello degli endosomi e la conseguente inibizione della degradazione da parte delle peptidasi nel sistema endosoma/lisosoma e le riporta sulla membrana dove vengono riciclati.



Utilizzo della porzione Fc per stabilizzare proteine ingegnerizzate: l'etanercept

- Questo fenomeno è stato utilizzato per stabilizzare proteine di fusione prodotte a scopo terapeutico.
- Etanercept (EnbrelTM), una proteina di fusione ricombinante fra il recettore per TNF α ed il frammento Fc è stata utilizzata con successo nel trattamento dell'artrite reumatoide.
- Efficacia clinica Etanercept legata anche all'aumento del tempo di emivita dovuto all'interazione del frammento Fc con il recettore di Brambell



Tossicità dei farmaci biologici

Reazioni da infusione

- Causata da molti biologici, in particolare mab.
- In genere entro una o poche ore dalla prima somministrazione
- Di solito sintomatologia modesta, similinfluenzale, prurito, rash; raramente seria con ipotensione, broncospasmo, arresto cardiaco e orticaria.
- Più frequente con mab murini, chimerici (rituximab) o umanizzati (trastuzumab), relativamente rara con mab umani
- Rilascio di citochine (TNF e IL-6).

Farmaci biologici: principali problematiche di sicurezza

- **Patologie autoimmuni**
 - Insorgenza di patologie autoimmunitarie sistemiche (vasculiti, sarcoidosi) e organo specifiche (psoriasi, epatite autoimmune, neuropatie periferiche)
- **Immunogenicità**
 - Formazione di anticorpi contro l'anti TNF- α con conseguente neutralizzazione, aumentata eliminazione del farmaco e fallimento terapeutico
- **Cardiotossicità**
 - Anticorpi monoclonali (trastuzumab, cetuximab, panitumumab e bevacizumab) sono stati associati ad eventi avversi di natura cardiaca.
- **Tossicità cutanea**
 - Anticorpi monoclonali anti-EGFR associati a tossicità cutanea
- **Infezioni**
 - Insorgenza di infezioni opportunistiche virali (leucoencefalopatia progressiva multifocale, da JC virus) e di gravi infezioni batteriche (TBC)
- **Patologie tumorali**
 - Insorgenza di linfoma

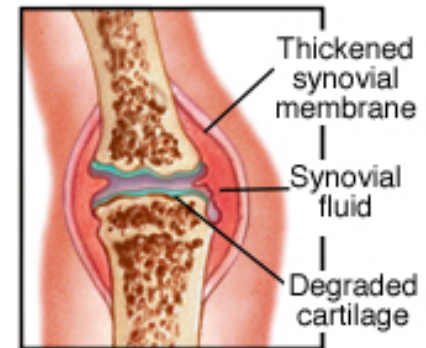
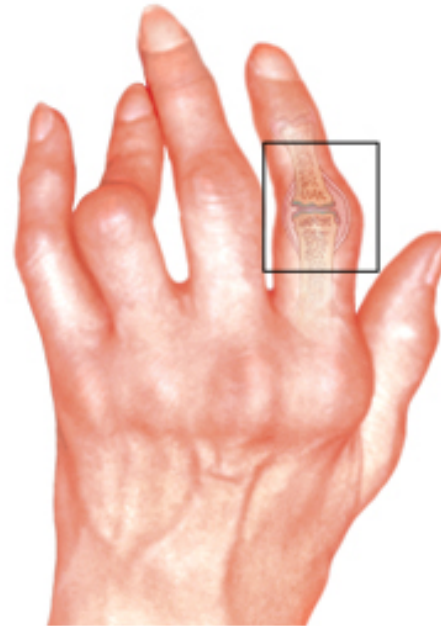
Farmaci biotecnologici e autoimmunità

L'effetto immunosoppressore può essere ottenuto bloccando:

- Fattori solubili, come le citochine (TNF α , IL6, IL17, IL 12/23, etc) coinvolte nell'amplificazione della risposta immune
- Molecole accessorie (quali CD4, CD8, CD28) che inviano alla cellula un segnale costimolatorio
- Molecole di adesione (CD11/ CD18, CD54, VCAM-1, le selectine) deputate tanto a mediare i contatti intercellulari quanto la migrazione cellulare nel sito di flogosi
- Molecole responsabili dell'iniziazione della risposta immune cellulomediata (molecole HLA di classe II, recettore T cellulare)

Artrite reumatoide

- Farmaci anti TNF α
 - Infliximab
 - Adalimumab
 - Etanercept
 - Golimumab
 - Certolizumab
- Altri bersagli
 - Abatacept
 - Tocilizumab
 - Rituximab

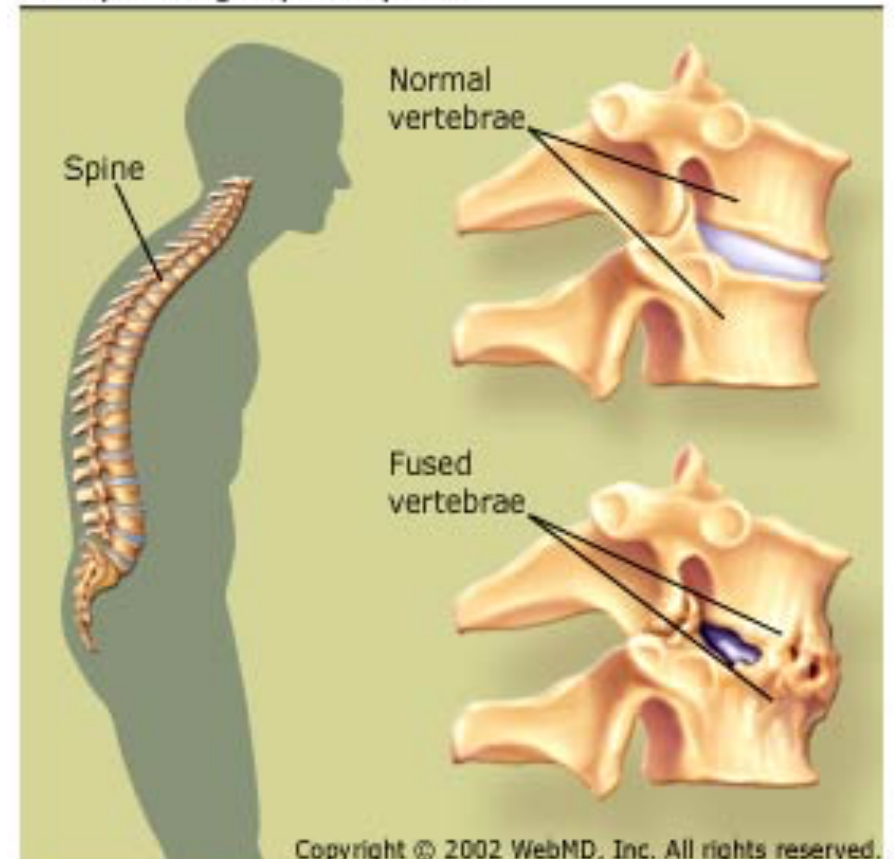


© MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH. ALL RIGHTS RESERVED.

Spondilite sclerosante e spondiloartrite

- Farmaci anti TNF α
 - Infliximab
 - Adalimumab
 - Etanercept
 - Golimumab
 - Certolizumab
- Altri bersagli
 - Secukinumab

Ankylosing Spondylitis



Psoriasi e Artrite psoriasica

- Farmaci anti TNFa

- Infliximab
- Adalimumab
- Etanercept
- Golimumab
- Certolizumab

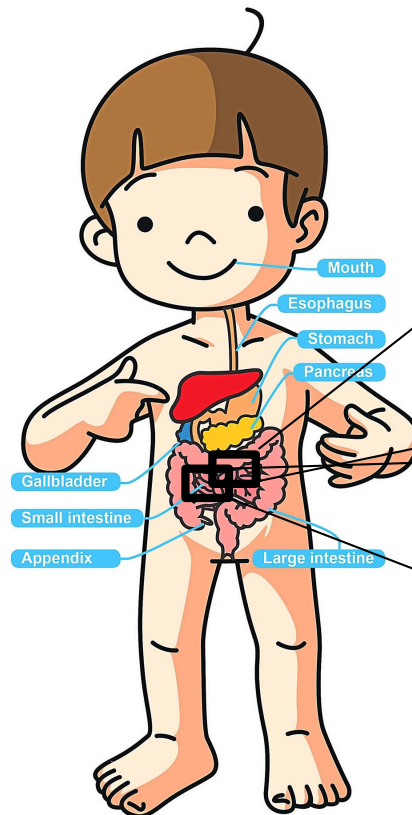
- Altri bersagli

- Ustekinumab
- Secukinumab



Malattie infiammatorie croniche intestinali

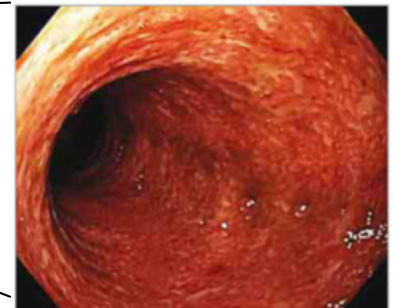
- Farmaci anti TNF α
 - Infliximab
 - Adalimumab
 - Golimumab
- Altri bersagli
 - Vedolizumab



Crohn Disease

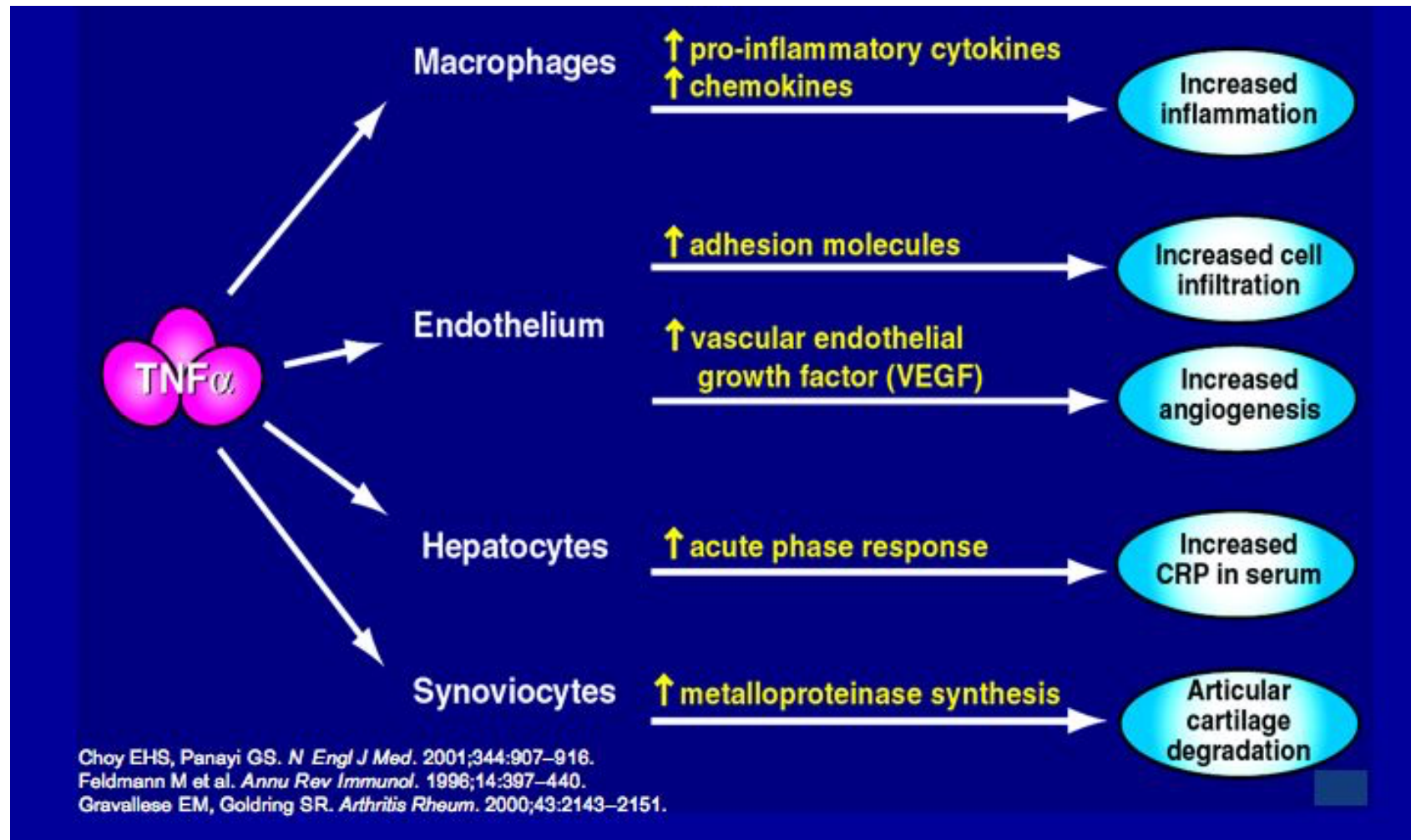


Ulcerative Colitis



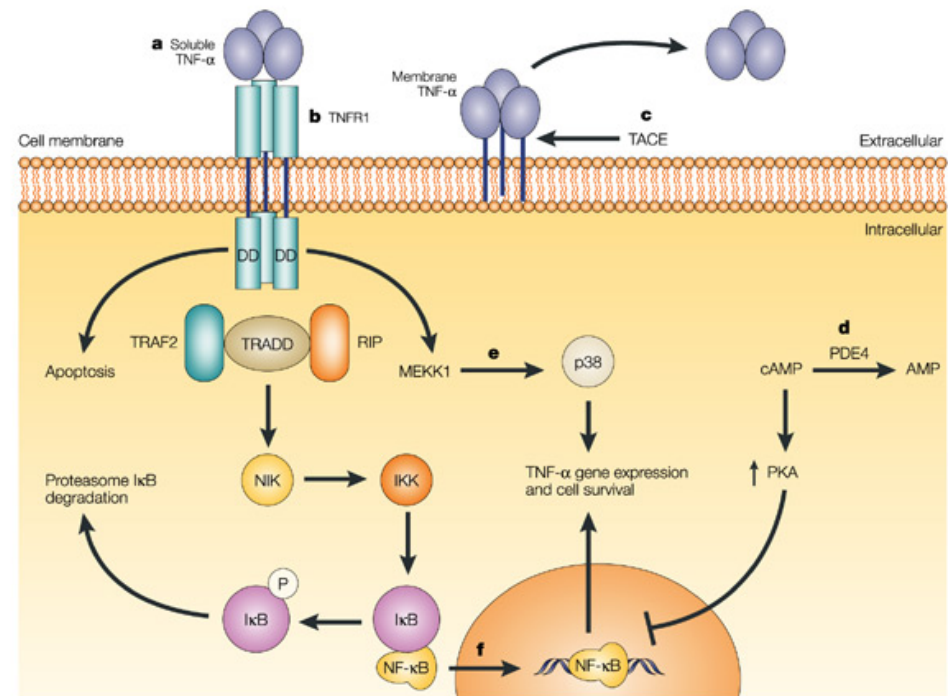
TNF α (fattore di necrosi tumorale alfa)

- Citochina coinvolta nell'infiammazione sistemica.
- Prodotta principalmente da macrofagi, ma anche da linfociti T CD4+, cellule NK, neutrofili, mastociti, eosinofili e neuroni.

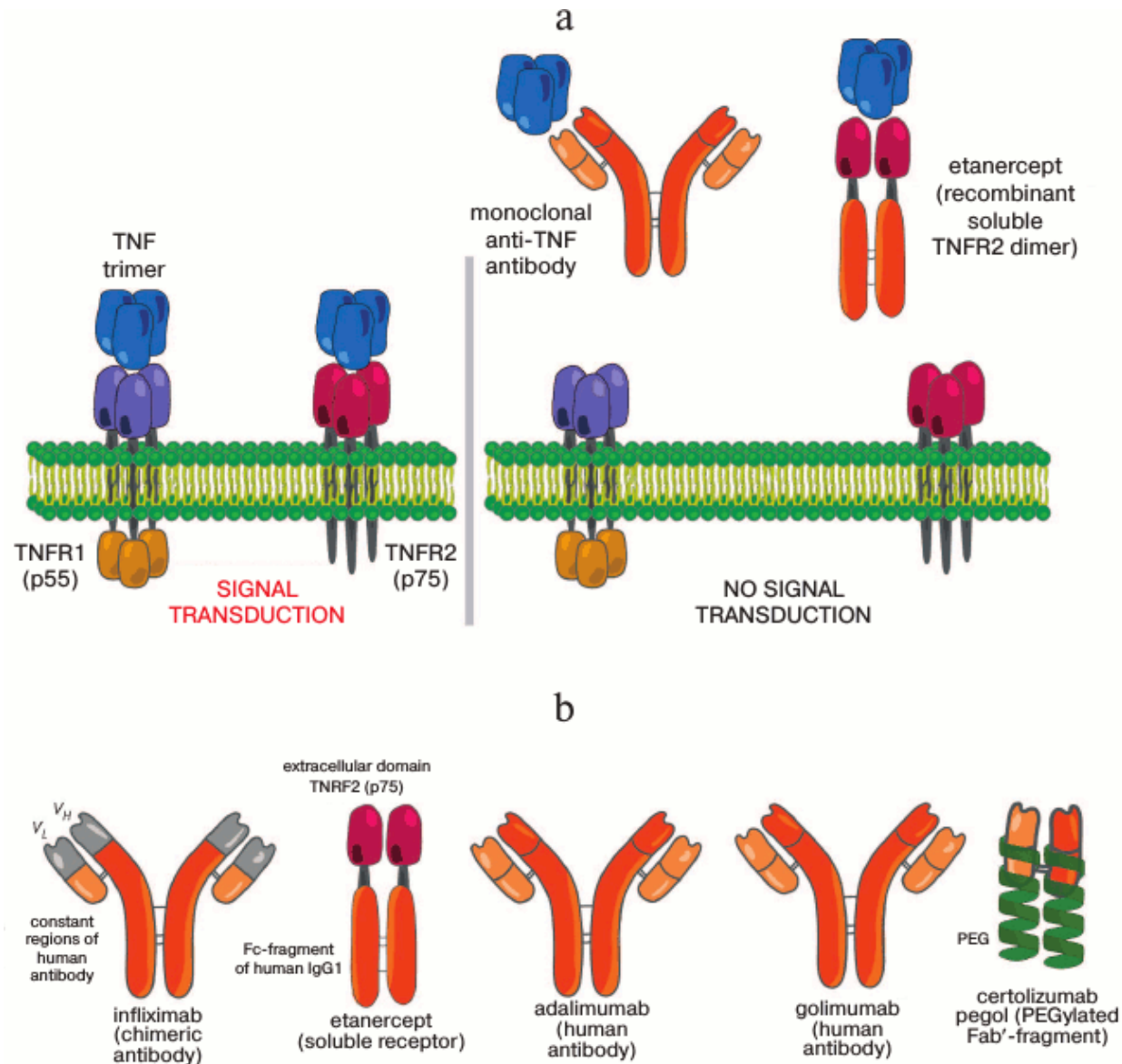


TNF-R1 espresso nella maggior parte dei tessuti, attivato sia dalla frazione di TNF legata alla membrana sia dalla forma solubile.

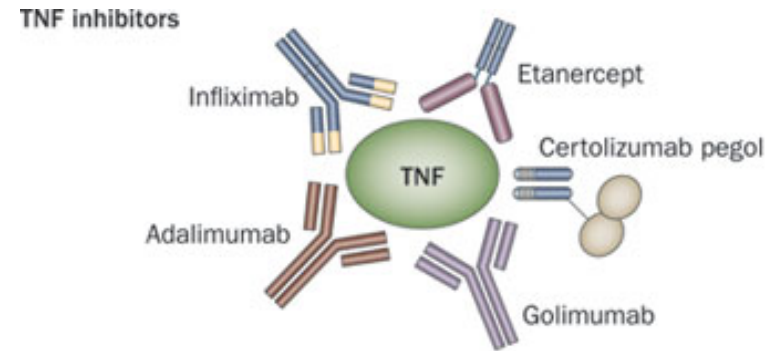
TNF-R2 si trova solo nelle cellule del sistema immunitario, risponde solo alla forma solubile del TNF.



Anticorpi anti TNFa

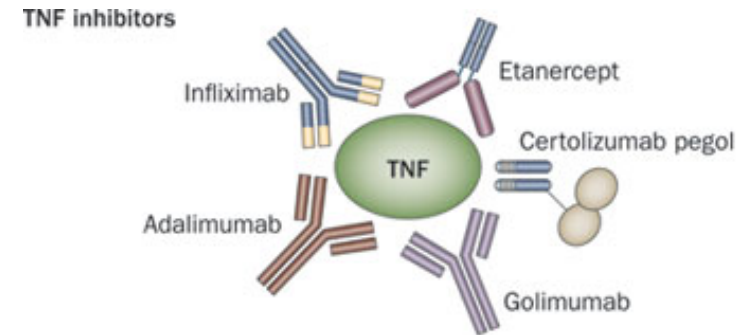


Infliximab (Remicade, Flixabi, Inflectra, Remsima)



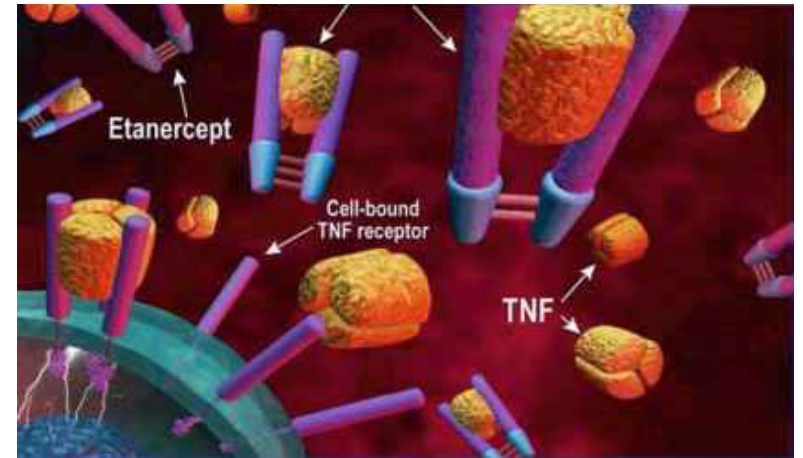
- Anticorpo monoclonale chimerico IgG1.
- Bersaglio: TNF alfa solubile e di membrana.
- Via di somministrazione: infusione endovenosa, in 2 ore, premedicazione con steroide, antistaminico e/o paracetamolo.
- Dosaggio: 3-5 mg/kg peso.
- Frequenza: dopo carico, ogni 8 settimane.
- Indicazioni: artrite reumatoide, artrite psoriasica, psoriasi, spondilite anchilosante, colite ulcerosa, malattia di Crohn

Adalimumab (Humira)



- Anticorpo monoclonale umano IgG1.
- Target: TNF alfa solubile e di membrana.
- Via di somministrazione: sottocute
- Dosaggio: 40 mg
- Frequenza: ogni 14 giorni
- Indicazioni: artrite reumatoide, artrite psoriasica, psoriasi, artrite idiopatica giovanile, spondilite anchilosante, spondiloartrite, colite ulcerosa, malattia di Crohn....

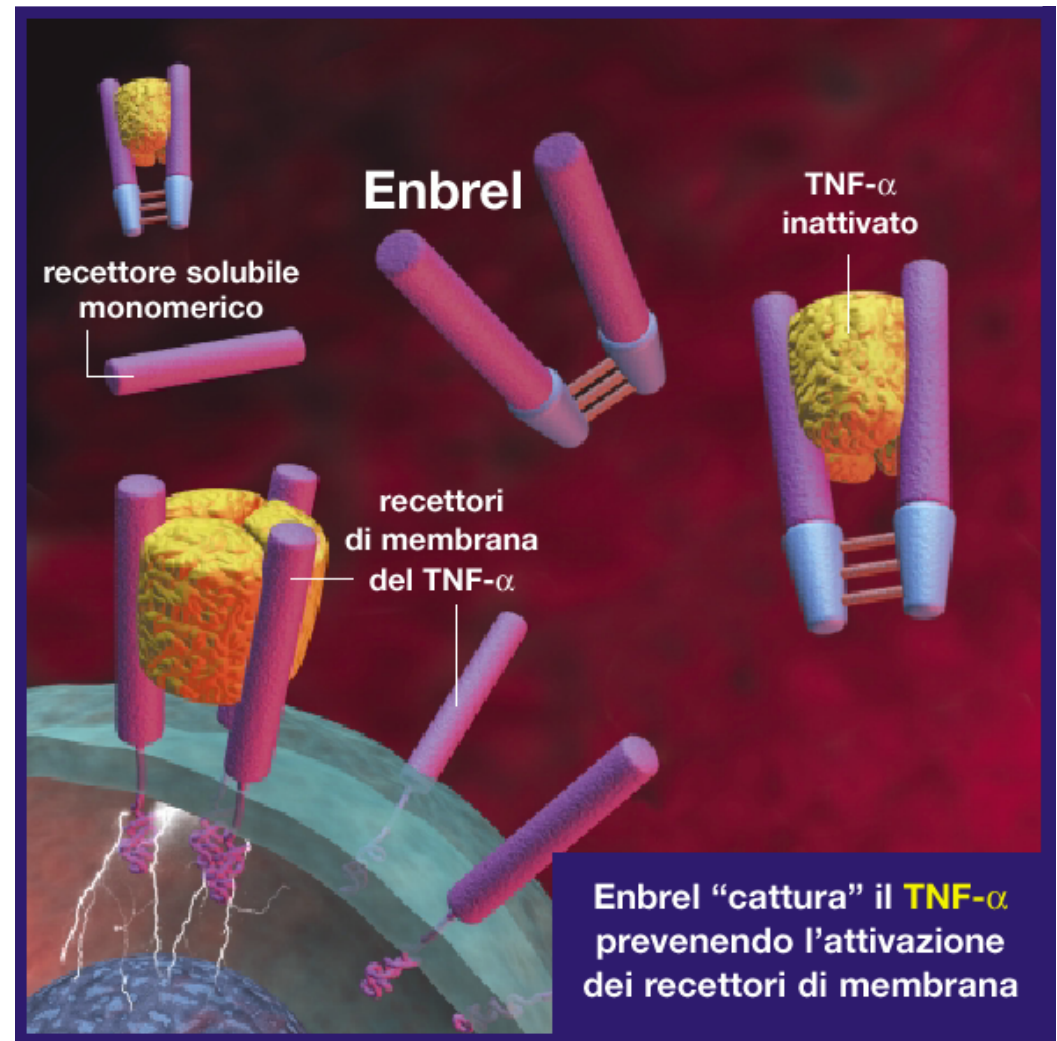
Etanercept (Enbrel, Benepali, Erelzi)



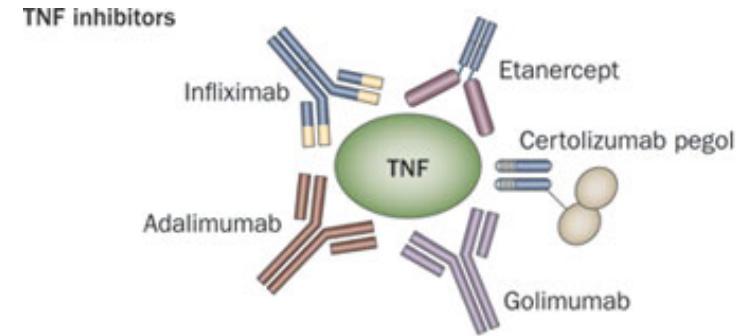
- Proteina chimerica di fusione del recettore umano del TNF alfa (TNFR2) con la frazione Fc dell'IgG1 umana.
- Target: TNF alfa solubile e TNF β .
- Via di somministrazione: sottocute.
- Dosaggio: 50 mg.
- Frequenza: settimanale
- Indicazioni: artrite reumatoide, artrite psoriasica, psoriasi, artrite idiopatica giovanile, spondilite anchilosante.

Utilizzo della porzione Fc per stabilizzare proteine ingegnerizzate: l'etanercept

- Questo fenomeno è stato utilizzato per stabilizzare proteine di fusione prodotte a scopo terapeutico.
- L'efficacia clinica Etanercept è legata anche all'aumento del tempo di emivita dovuto all'interazione del frammento Fc con il recettore di Brambell

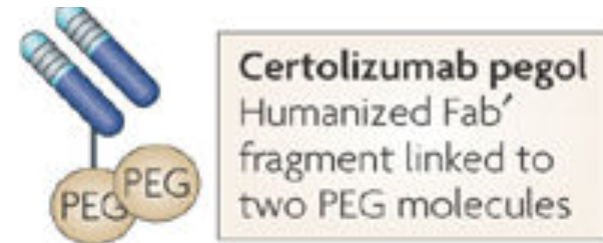


Golimumab (Simponi)



- Anticorpo monoclonale umano IgG1k.
- Target: TNF alfa solubile e di membrana.
- Via di somministrazione: sottocute.
- Dosaggio: 50 mg.
- Frequenza: mensile
- Indicazioni: artrite reumatoide, artrite psoriasica, artrite idiopatica giovanile, spondilite anchilosante, spondiloartrite, colite ulcerosa.

Certolizumab pegol (Cimzia)



Nature Reviews | Drug Discovery

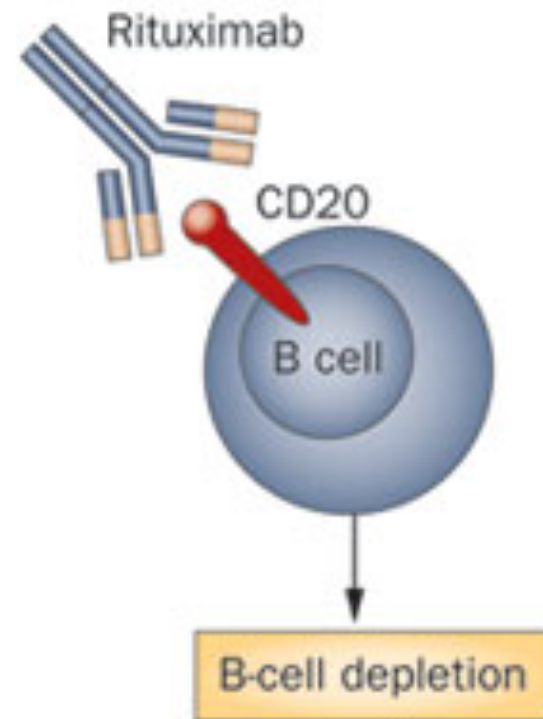
- Frammento Fab (manca Fc) di anticorpo ricombinante umanizzato coniugato con polietilenglicole (PEG).
- Target: TNF alfa solubile e di membrana.
- Via di somministrazione: sottocute.
- Dosaggio: dopo carico, 200 mg.
- Frequenza: ogni 2 settimane
- Indicazioni: artrite reumatoide, artrite psoriasica, spondilite anchilosante

Farmaci biotecnologici non anti TNF utilizzati nelle malattie autoimmuni

- Negli ultimi anni sono stati prodotti nuovi farmaci biotecnologici che agiscono bloccando altre vie patogenetiche (IL6, attivazione dei T linfociti e costimolazione, IL17, integrine, IL 12/23, etc).

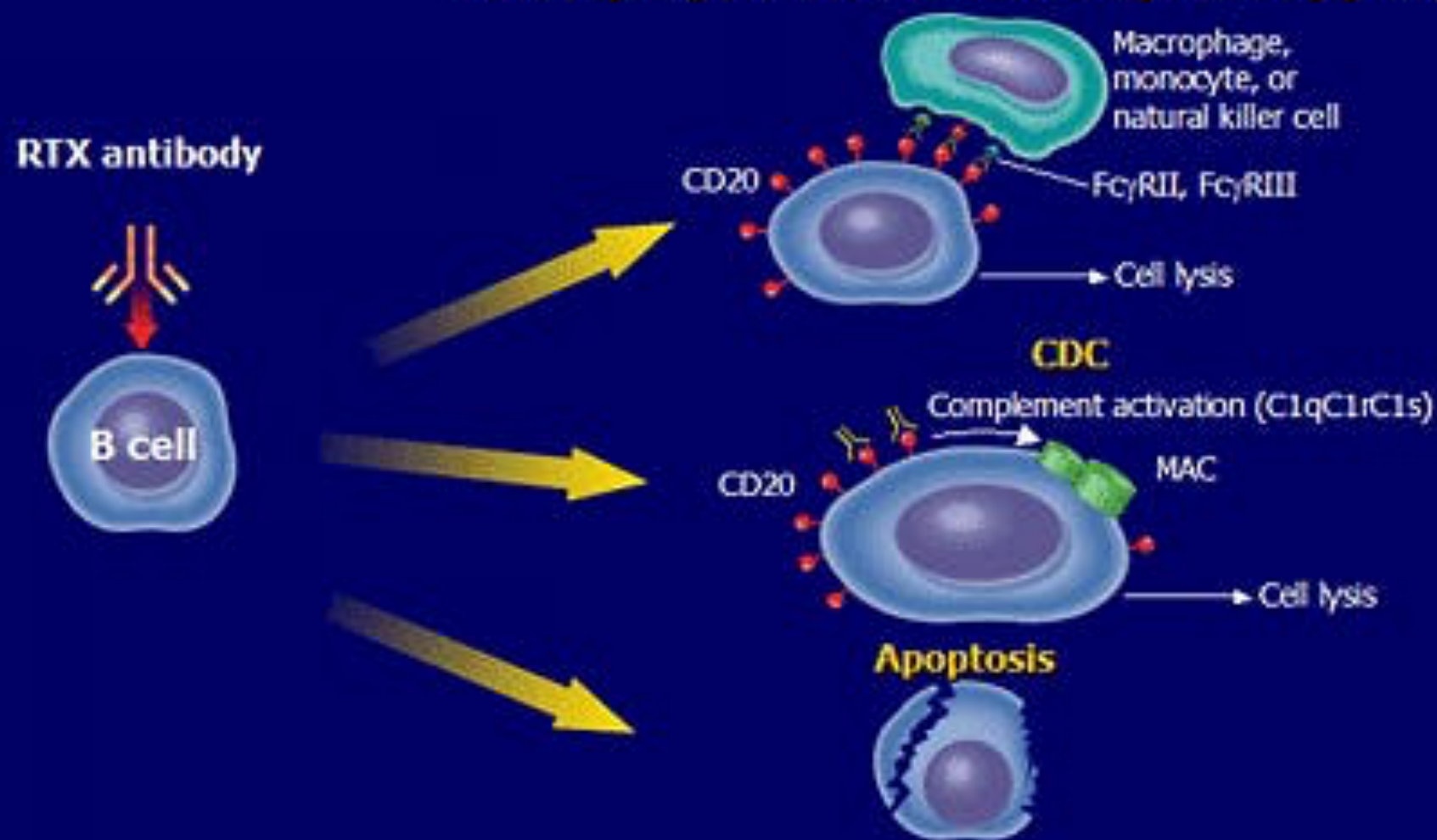
Farmaco	Nome commerciale	Indicazioni	Bersaglio	Via di somm.
Rituximab	Mabthera®, Truxima®, Rixathon®	Linfoma non H, LLC, RA	CD20	i.v., s.c.

Anticorpo chimerico (IgG1)



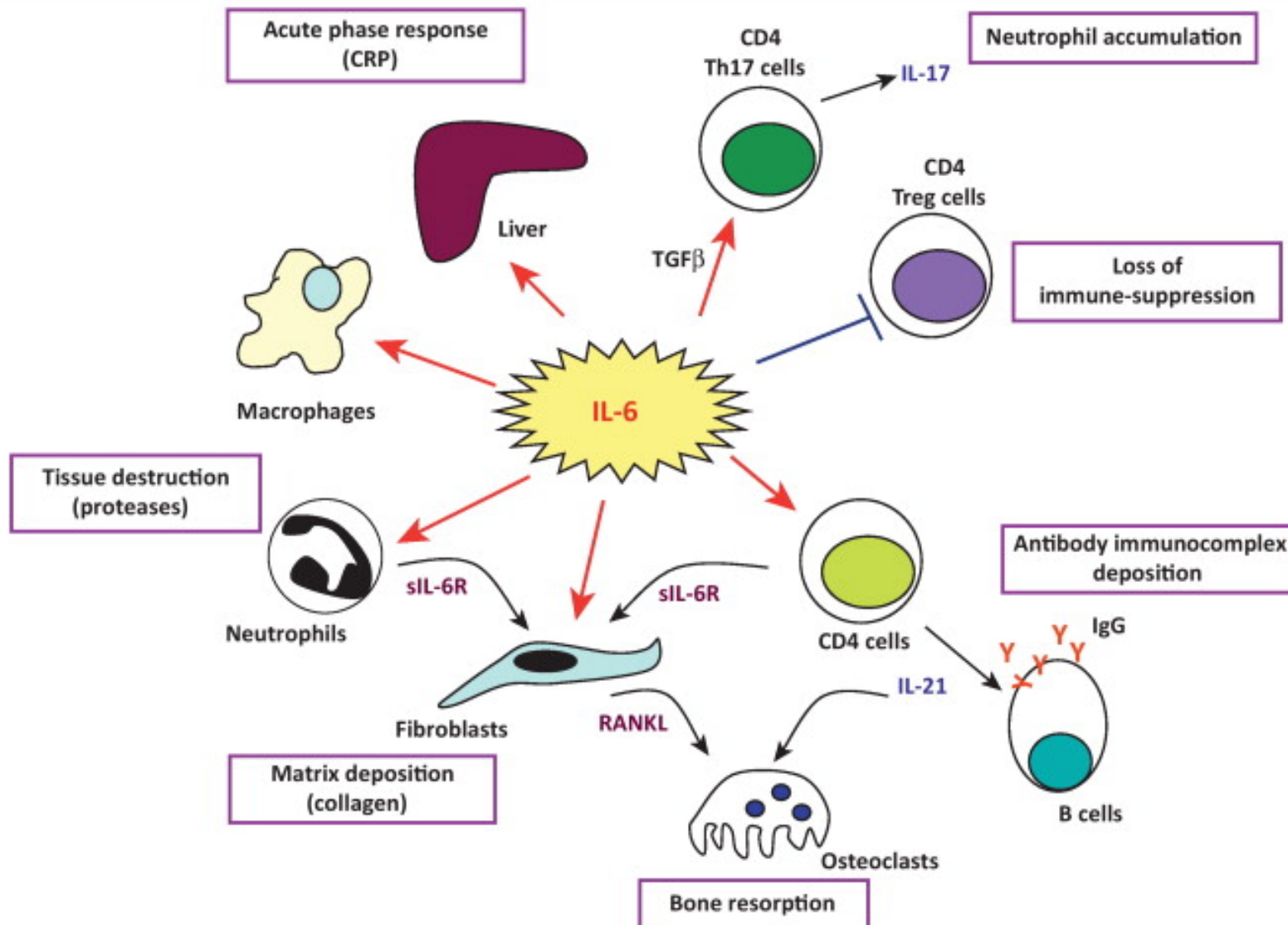
Rituximab: Mechanism of Action

Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity (ADCC)



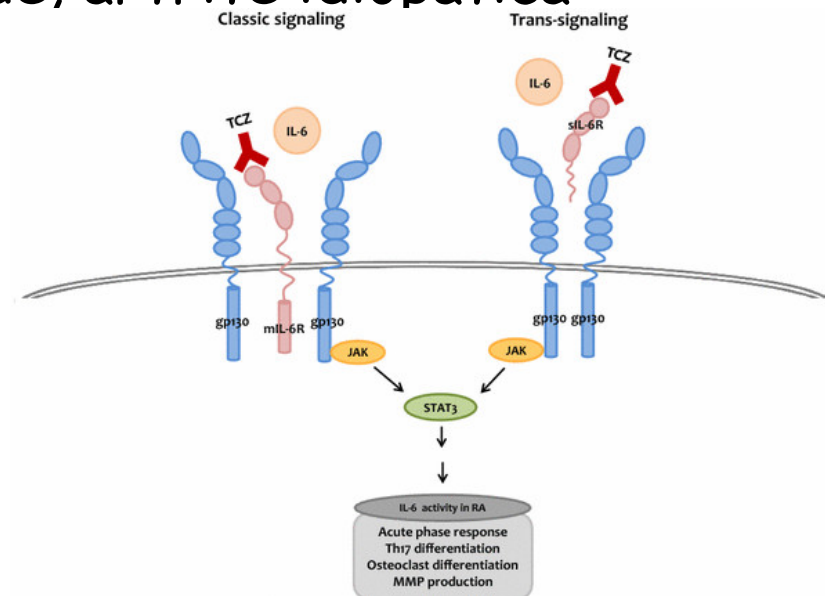
Anderson DR et al. *Biochem Soc Trans*. 1997;25:705-708; Golay J et al. *Blood*. 2000;95:3900-3906; Reff ME et al. *Blood*. 1994;83:435-445; Clynes RA et al. *Nat Med*. 2000;6:443-446; Shan D et al. *Cancer Immunol Immunother*. 2000;48:673-683; Silverman GJ et al. *Arthritis Rheum*. 2003;48:1484-1492.

Interleukina 6

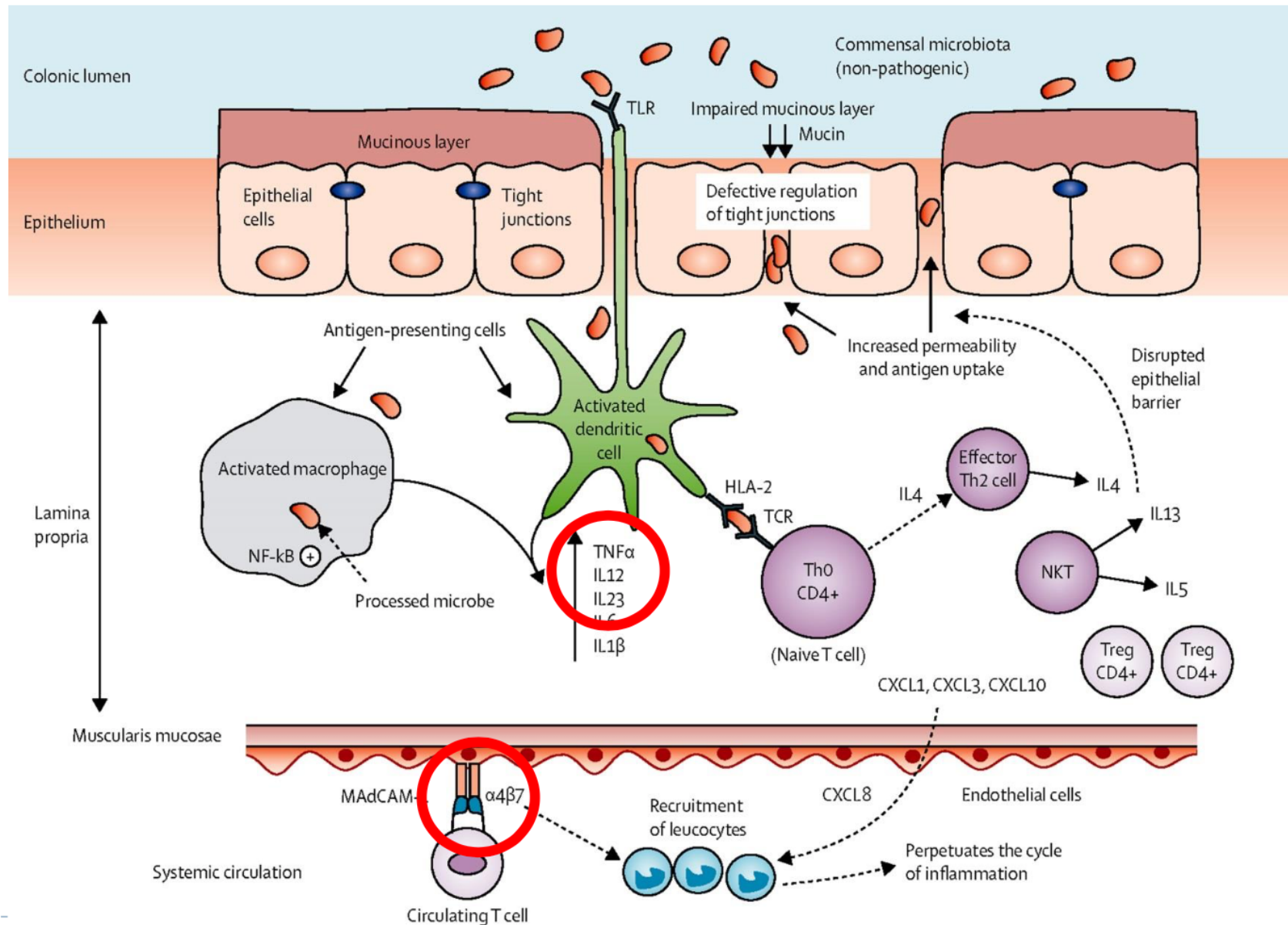


Tocilizumab (Roactemra®)

- Anticorpo monoclonale umanizzato IgG1k.
- Target: recettore umano dell'IL-6.
- Via di somministrazione: infusione endovenosa di 1 ora / sottocute.
- Dosaggio: 8 mg/kg e.v. / 162 mg s.c.
- Frequenza: ogni 4 settimane / settimanale
- Indicazioni: artrite reumatoide, artrite idiopatica giovanile.



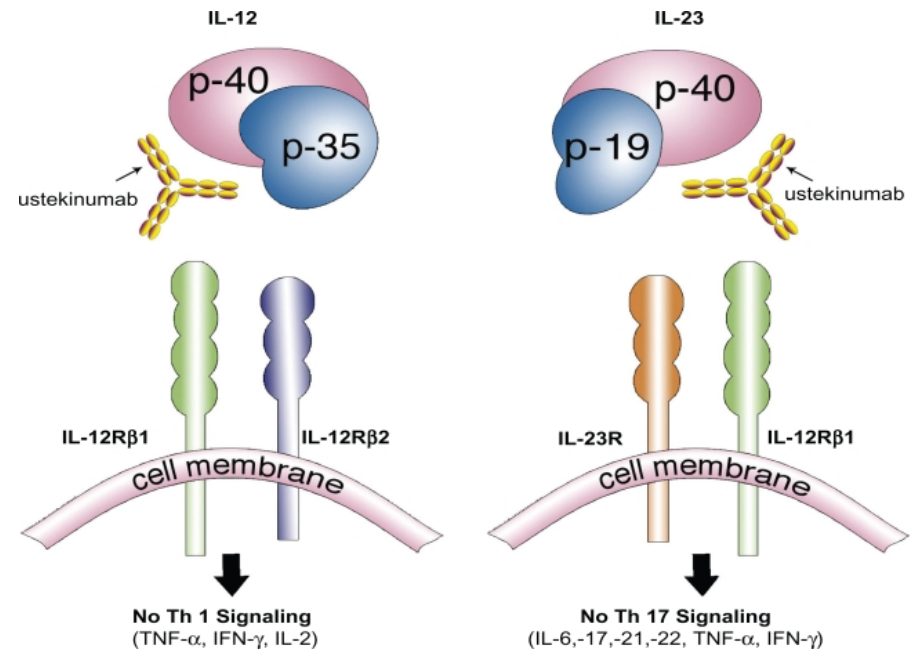
MICI



Vedolizumab (Entyvio)

- Anticorpo monoclonale umanizzato IgG1.
Target: integrina $\alpha4\beta7$.
Via di somministrazione: infusione endovenosa, 30 minuti. Dosaggio: 300 mg.
Frequenza: dopo carico iniziale, ogni 8 settimane.
Indicazioni: rettocolite ulcerosa, morbo di Crohn.

Ustekinumab (Stelara)



- Anticorpo monoclonale IgG1k umano
Target: subunità p40 comune a IL 12/23.
Via di somministrazione: sottocute.
Dosaggio: 45 mg.
Frequenza: dopo carico iniziale, ogni 12 settimane. Indicazioni: Psoriasi, Artrite Psoriasica.

Vie di somministrazione

- Endovena

- Infliximab
- Abatacept
- Tocilizumab
- Rituximab
- Vedolizumab

- Sottocute

- Adalimumab
- Etanercept
- Golimumab
- Certolizumab
- Ustekinumab
- (Secukinumab)
- Abatacept
- Tocilizumab

Infusione endovenosa

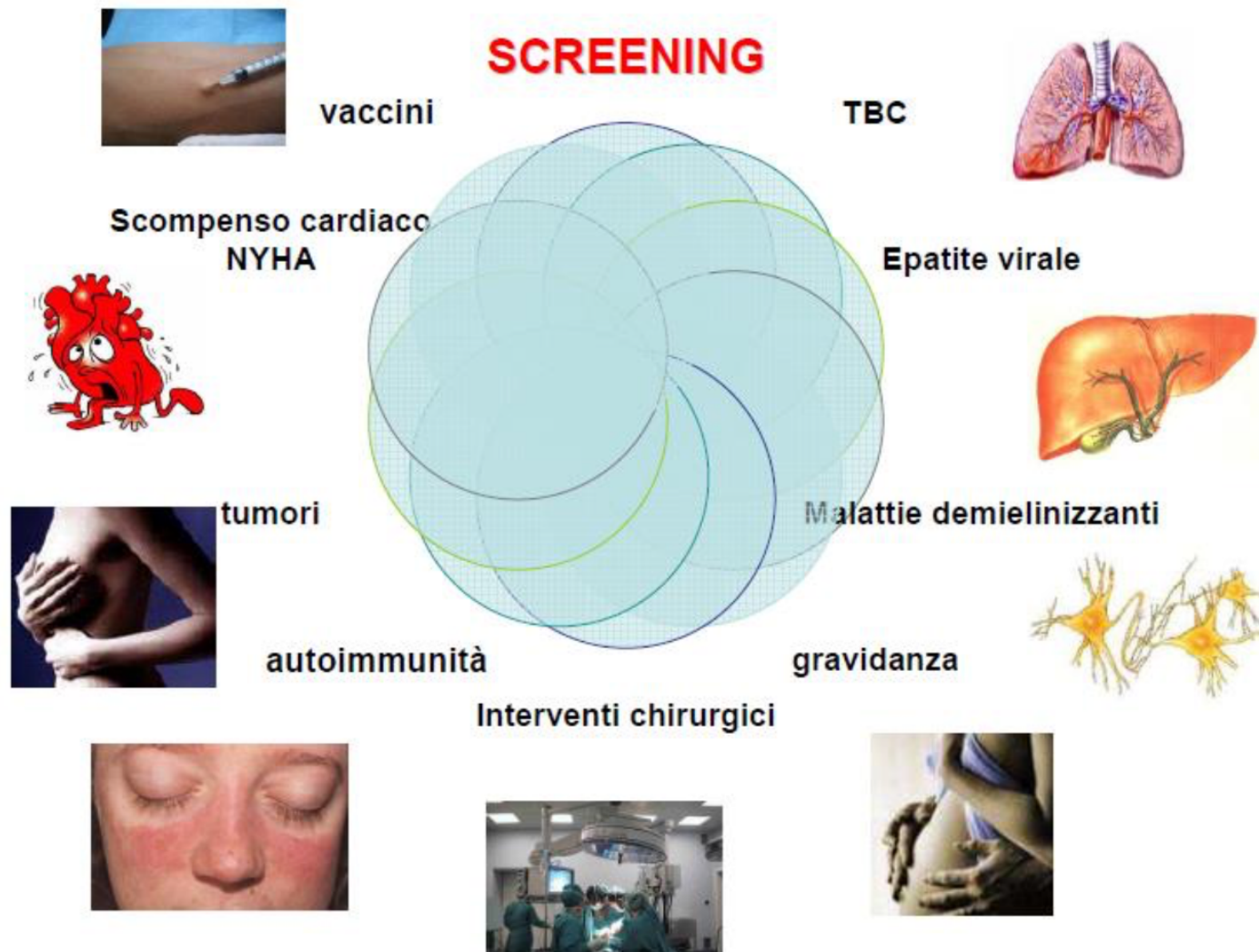
Reazioni alle infusioni.

- Forme acute (entro 24 h, 3-6%): eritema, prurito, orticaria, rare crisi vasomotorie (anafilassi).
 - Rallentare i tempi di infusione, somministrare premedicazioni (antistaminici, steroidi, paracetamolo).
 - Con reazioni severe, sospendere infusione, iniziare trattamento antistaminico e steroideo. Prendere in considerazione sospensione e/o switch.
- Forme ritardate (fino a 14 giorni dopo, 1-2%): malattia da siero (astenia, mialgie, febbre, angioedema, orticaria), spesso associate a anticorpi anti farmaco.
 - Prevenzione con immunosoppressori. Sospendere biologico e switch.

Iniezione sottocutanea

- Reazione al sito di iniezione (eritema, prurito, dolor e tumor).
- Cambiare continuamente il sito di iniezione, iniettare lentamente, farmaco a temperatura ambiente.
- Non rappresenta una controindicazione alla terapia, per la maggior parte di moderata entità, gestibile con terapie sintomatiche.

Prima di iniziare



Infezioni

- Le infezioni sono l'effetto collaterale più frequente, nella maggior parte dei casi interessano il tratto respiratorio, urinario, cute e tessuti molli, non gravi.
- In corso di malattie croniche il rischio di infezioni è comunque aumentato rispetto alla popolazione generale.
- Gli Anti TNF possono riattivare le infezioni da H. Zoster.
- Basso rischio di infezioni da HHV, CMV e EBV.
- Screening per HIV in pazienti selezionati a rischio.

Nelle infezioni

- Comuni le infezioni vie aeree superiori con sintomi similinfluenzali: valutazione clinico/laboratoristica per eventuale infezione batterica e relativa terapia antibiotica, altrimenti sintomatici.
- Infezioni maggiori intercorrenti: **sospensione!**
 - Va iniziata antibioticoterapia, o terapia antivirale (Zoster) con ripresa del biologico alla guarigione.

Infezione tubercolare

- Anti-TNF determinano lisi del granuloma che isola il micobatterio
- Il rischio varia a seconda del biologico: etanercept e non anti TNF hanno un rischio minore rispetto agli anti TNF.
- Necessario screening, mediante anamnesi, intradermo-reazione di Mantoux e/o test IGRA (Quantiferon) e RX torace.
- Ripetizione test annualmente nei soggetti a rischio di esposizione in aree ad alta prevalenza, per sviluppo di nuove infezioni.

Infezione tubercolare

- TB latente prima della terapia:
 - Profilassi anti-tubercolare per ridurre il rischio di riattivazione, con isoniazide o rifampicina (solitamente ISO 300 mg per 9 mesi), almeno 1 mese prima del biologico.
- TB attiva durante la terapia:
 - Sospendere il biologico, iniziare terapia per TB attiva, ripresa con altri immunosoppressori o biologici a rischio ridotto, dopo almeno 2 mesi.

Infezione da HBV

- Anti TNF associati a casi di riattivazione infezione HBV

Infezione da HCV

- Non solo il trattamento con biologici è risultato ben tollerato ma descritti anche effetti sinergici in combinazione con antivirali.
- Comunque necessario screening anti HCV:
- Nei pazienti positivi opportuno monitoraggio e follow up con specialista infettivologo (dosaggio HCV RNA e transaminasi)
- Con epatopatia ingravescente e possibile evoluzione in HCC, biologici controindicati!

Biologici e vaccini

- Aumentato rischio di infezioni in corso di terapia immunosoppressiva e malattia infiammatoria cronica.
- Le vaccinazioni conferiscono elevata probabilità di protezione, anche se il titolo anticorpale è ridotto rispetto ai controlli sani.
- Anche con terapie concomitanti (steroidi, altri immunosoppressori) la risposta protettiva non è compromessa ai dosaggi abituali.
- Il rischio di eventi avversi e riacutizzazione di malattie autoimmuni è raro e trascurabile, rispetto ai benefici.

Biologici e vaccini

- Vaccini acellulari: (influenza, pneumococco): **CONSENTITI**. Sono raccomandate le comuni vaccinazioni (anti influenzale annuale, anti pneumococcica ogni 5 anni).
- Vaccini vivi o vivi attenuati (morbillo, rosolia, parotite, HZV, febbre gialla, tifo): **DA EVITARE**

Biologici e chirurgia

- Evidenze cliniche controverse per aumentato rischio di complicanze infettive e rallentamento della guarigione.
- Per chirurgia minore (es. cataratta): Non sospendere.
- Per interventi maggiori: Sospendere 1 settimana prima e riprendere 1-2 settimane dopo.
- Sospensione anche in base ai tempi di emivita del farmaco e ripresa alla guarigione della ferita, in assenza di segni di infezione.

Biologici e neoplasie

- Con malattie infiammatorie croniche attive, in base a numerosi studi epidemiologici, il rischio di sviluppare neoplasie è aumentato.
- Alcuni immunosoppressori usati prima o in associazione ai biologici sono associati a rischio neoplasie (cutanee, polmonari, linfomi).
- Dai dati disponibili soprattutto per gli anti TNF, il rischio non sembrerebbe aumentato.

I biosimilari

- Nei prossimi anni i medicinali biologici ad alto costo rappresenteranno più del 25% del mercato farmaceutico e il 50% delle nuove registrazioni. I biosimilari diventeranno una componente necessaria per le future regolamentazioni del SSN.

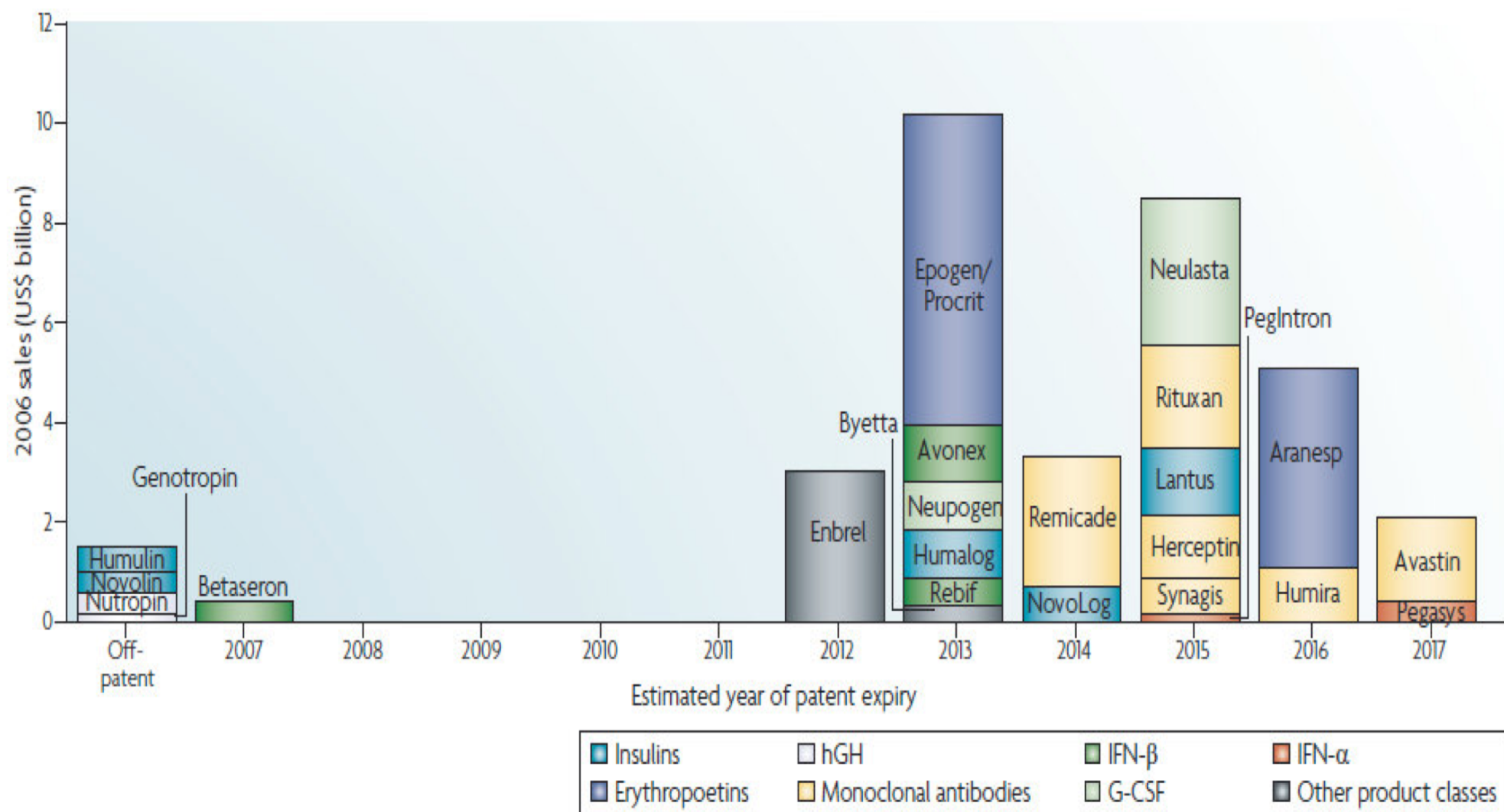


Figure 3 | **Current sales and estimated patent expiry of selected protein products.** Selected therapeutic protein products with annual sales exceeding US\$250 million displayed according to US sales, estimated

year of patent expiry and product class. G-CSF, granulocyte-colony stimulating factor; hGH, human growth hormone; IFN, interferon. Source: REF. 2.

Nome commerciale	Principio attivo	Indicazioni	Spesa nel 2015 (USA) (billion \$)	Immissione in commercio
Humira	Adalimumab	RA, IBD	14	2002
Remicade	Infliximab	RA, IBD	5,78	1998
Rituxan	Rituximab	Linfoma non H, LLC, RA	7,32	1997
Enbrel	Etanercept	RA, psoriasi	23 (2016)	1998
Lantus	Insulina glargina	Diabete	6,98	2000
Avastin	Bevacizumab	Ca mammella, colon retto...	6,95	2004
Herceptin	Trastuzumab	Ca mammella HER2+	6,59	1998
Neulasta	Pegfilgastrim	Neutropenia da chemioterapia	4,6 (2016)	2002
Lucentis	Ranibizumab	Degenerazione maculare	4,2	2006
Avonex	Interferon beta-1a	Sclerosi multipla	3	1996

Farmaci a brevetto scaduto

Farmaci
tradizionali

• Farmaci generici

Farmaci
biologici

• Farmaci biosimilari

Farmaco biosimilare

- Si definiscono farmaci biosimilari quei **farmaci biologici il cui principio attivo è analogo, ma non identico per caratterizzazione e produzione, ad un farmaco biologico già autorizzato all'immissione in commercio e per il quale sia scaduta la copertura brevettuale.**
- Il biosimilare ed il suo prodotto di riferimento, essendo ottenuti mediante processi produttivi inevitabilmente differenti, **non possono essere identici, ma devono essere simili in termini di qualità, efficacia e sicurezza.**

Il processo è il prodotto

- A differenza dei farmaci tradizionali ottenuti per sintesi chimica, **la struttura molecolare dei farmaci biologici è strettamente dipendente dal processo di produzione** che può durare mesi e che comprende tappe complesse.
- La replicazione del processo di produzione può essere difficile se non impossibile, perché il produttore del farmaco originator può detenere il brevetto relativo allo specifico processo di produzione.
- Le differenze nel processo di produzione possono determinare un differente profilo di sicurezza del farmaco biosimilare rispetto all'originator
- La variabilità intrinseca delle molecole e la complessità delle tecniche di produzione rendono i farmaci biologici **particolarmente difficili da riprodurre, al punto che possono sussistere differenze tra i lotti di uno stesso prodotto ottenuto con le stesse metodiche di produzione.**

Esercizio di comparabilità

- Insieme di procedure di confronto tra il farmaco biosimilare e il suo prodotto di riferimento che iniziano dagli studi di qualità (comparabilità chimico-fisica e biologica) proseguono con la valutazione della comparabilità non clinica (studi non clinici comparativi) e con quella clinica (studi clinici di fase I e III volti alla valutazione dell'efficacia e della sicurezza, includendo gli studi di immunogenicità)



- Lo scopo dell'esercizio di comparabilità è dimostrare che il farmaco biosimilare non presenti alcuna differenza clinica significativa rispetto al prodotto di riferimento.

Procedura europea di approvazione centralizzata per i farmaci biosimilari

- Nell'Unione Europea, tutte le domande di AIC dei medicinali biologici, tra cui i biosimilari, sono esaminate dall'EMA attraverso la **procedura centralizzata**.
- L'EMA è stato il primo ente regolatorio ad aver istituito un quadro normativo per il percorso di approvazione dei medicinali biosimilari.

Disposizioni regolatorie relative alla sostituibilità del farmaco biosimilare

- L'EMA non ha espresso una posizione ufficiale, lasciando alle Autorità nazionali competenti dei diversi stati membri autonomia decisionale e legislativa in materia.
- Dalle raccomandazioni promulgate emerge un atteggiamento di cautela: "la decisione circa la scelta prescrittiva del medicinale specifico da impiegare, di riferimento piuttosto che biosimilare, deve essere affidata a **personale sanitario qualificato**" (EMA/74562/2006 Rev.1)
- **In Italia la posizione dell'AIFA chiarisce che i medicinali biologici e biosimilari non possono essere considerati sic e simpliciter alla stregua dei prodotti equivalenti, escludendone quindi la vicendevole sostituibilità terapeutica.**

Farmacovigilanza e sicurezza dei farmaci biosimilari

- I produttori di farmaci biologici e biosimilari sono tenuti ad istituire, secondo le normative vigenti, un **sistema di farmacovigilanza per il monitoraggio della sicurezza del prodotto**.
- Ogni azienda è tenuta a presentare, unitamente alla domanda di autorizzazione all'immissione in commercio, un piano di gestione del rischio (**Risk Management Plan EU-RMP**) che espliciti in dettaglio il sistema di gestione del rischio descrivendo:
 - Il profilo di sicurezza del farmaco
 - Le modalità con cui il produttore continuerà a monitorare la sicurezza e l'efficacia del materiale
- L'EU-RMP per un biosimilare deve, in aggiunta, tener conto del profilo di sicurezza noto del corrispondente medicinale di riferimento.

Prospettive future correlate ai farmaci biosimilari

- Il biosimilare non è un sinonimo di generico. Ciò non significa che il biosimilare sia necessariamente inferiore
- Questioni aperte
 - Quali pazienti sono candidabili al biosimilare?
 - Pazienti di nuova diagnosi, ma cautela per i pazienti con storia clinica complessa.
 - Chi decide la sostituzione del trattamento?
 - La sostituzione senza l'avvallo del medico non è raccomandabile.
 - In che misura può ripetersi la sostituzione di un biosimilare con l'altro?
 - La sostituzione ripetuta delle prescrizioni deve essere scoraggiata.