

Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria



INSTRUCTIVO EXTERNO

EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD

Versión [1.0]

**Coordinación Técnica de Certificaciones, Autorizaciones y
Buenas Prácticas Sanitarias
Dirección Técnica de Medicamentos, Productos Naturales,
Dispositivos Médicos y Reactivos Bioquímicos
Dirección Técnica de Ensayos Clínicos**

Noviembre, 2019

LA AGENCIA NACIONAL DE REGULACIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA SANITARIA SE RESERVA EL DERECHO DE ESTE DOCUMENTO, EL CUAL NO DEBE SER USADO PARA OTRO PROPÓSITO DISTINTO AL PREVISTO EN EL MISMO, DOCUMENTOS IMPRESOS O FOTOCOPIADOS SON COPIAS NO CONTROLADAS, VERIFICAR SIEMPRE CON LA ÚLTIMA VERSIÓN VIGENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL.



**Juntos
lo logramos**

INSTRUCTIVO EXTERNO EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD	CÓDIGO	IE-B.3.2.1-MB-01
	VERSIÓN	1.0
	Página 3 de 8	

CONTROL DE CAMBIOS

Versión	Descripción	Fecha de actualización
1.0	Emisión de Original	Noviembre 2019

INSTRUCTIVO EXTERNO EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD	CÓDIGO	IE-B.3.2.1-MB-01
	VERSIÓN	1.0
	Página 4 de 8	

CONTENIDO

1. OBJETIVO	5
2. CONSIDERACIONES GENERALES.....	5
3. GLOSARIO DE TÉRMINOS	5
4. INSTRUCCIONES.....	8
5. ANEXOS.....	8

INSTRUCTIVO EXTERNO EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD	CÓDIGO	IE-B.3.2.1-MB-01
	VERSIÓN	1.0
	Página 5 de 8	

1. OBJETIVO

Proporcionar los lineamientos para la evaluación de la inmunogenicidad de proteínas terapéuticas para uso humano y de anticuerpos monoclonales destinados a uso clínico *in vivo*.

2. CONSIDERACIONES GENERALES

- a. La base legal del presente instructivo es el Reglamento para la obtención del registro sanitario, control y vigilancia de medicamentos biológicos para uso y consumo humano, Acuerdo Ministerial 385 (Registro Oficial Edición Especial 1011, 12-jul.-2019);
- b. Para la elaboración del presente instructivo se adaptó los siguientes documentos:
 - Directriz sobre la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas del Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP), 2017;
 - Evaluación de la inmunogenicidad de los productos de proteína terapéutica de la Agencia Reguladora de Estados Unidos Food and Drug Administration, 2014;
 - Directriz sobre la evaluación de la inmunogenicidad de anticuerpos monoclonales destinados a uso clínico *in vivo* del Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP), 2010;
 - Recomendaciones para la evaluación de Productos Bioterapéutico Similares (PBS), Documento Técnico No. 7 de la Red Panamericana de Armonización de la Reglamentación Farmacéutica, 2011.

3. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Para la aplicación del presente instructivo se utilizarán las siguientes definiciones y acrónimos:

ADA.- Anticuerpo anti-fármaco.

Anticuerpo.- Proteína perteneciente a la fracción de las gammaglobulinas: inmunoglobulina (Ig) formada o secretada por los linfocitos B y las células plasmáticas en respuesta a un estímulo antigénico, que según la teoría de selección clonal es muy específica contra éstos.

Anticuerpos monoclonales.- Son inmunoglobulinas derivadas de un mismo clon de linfocito B, cuyo clonaje y propagación se realizan en líneas de células continuas.

Antígeno.- Denominación para cualquier sustancia (xenógena, alógena, isógena o autógena) con grupos químicamente característicos, que el organismo considera extraña y que posee la capacidad de desencadenar una respuesta inmunitaria. Es también la denominación de sustancias con capacidad de desencadenar una reacción inmunitaria (reacción antígeno -anticuerpo), pero sin capacidad inmunógena.

ARN: Autoridad de Regulación Nacional

Epítopo.- Los epítomos o determinantes antigénicos son cada uno de los sitios discretos de una macromolécula que son reconocidos individualmente por un anticuerpo específico o por un TCR

INSTRUCTIVO EXTERNO EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD	CÓDIGO	IE-B.3.2.1-MB-01
	VERSIÓN	1.0
	Página 6 de 8	

específico. Son las regiones inmunológicamente activas de un inmunógeno (las que se unen de hecho a un receptor de linfocitos o a un Ac libre).

Estudio clínico.- Investigación realizada en seres humanos destinada a descubrir o verificar los efectos clínicos, farmacológicos y fármaco dinámicos de un producto en investigación, e identificar reacciones adversas y estudiar la absorción, distribución, metabolismo y excreción de un producto en investigación, con el fin de garantizar su seguridad y eficacia. Los términos ensayo clínico y estudio clínico son sinónimos.

Estudio no clínico.- Estudio para evaluar de actividad de los efectos del medicamento en animales.

Gestión de la calidad.- Las actividades coordinadas para dirigir y controlar una organización con respecto a la calidad.

Gestión de riesgos de calidad (sus siglas en inglés QRM).- Proceso sistemático para la evaluación, control, comunicación y revisión de los riesgos para la calidad del producto a lo largo del ciclo de vida del producto.

Haplotipo.- Es un conjunto de variaciones del ADN, o polimorfismos, que tienden a ser heredados juntos. Haplotipo se puede referir a una combinación de alelos o a un conjunto de polimorfismos de nucleótido sencillo (SNPs) que se encuentran en el mismo cromosoma.

HLA.- Antígenos Leucocitarios Humanos.

Inmunogenicidad.- Es la capacidad que tiene un medicamento para producir una inmunorespuesta, por ejemplo: el desarrollo de anticuerpos específicos, una respuesta mediada por linfocitos T o una reacción alérgica o anafiláctica. El cual puede neutralizar el biológico de la misma medicación afectando la misma respuesta clínica, afectando negativamente al tratamiento subsecuente o puede causar reacciones adversas potencialmente fatales tales como autoinmunidad.

La Agencia o la ARCSA.- Se refiere a la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria – ARCSA, Dr. Leopoldo Izquieta Pérez.

mAb.- Anticuerpo monoclonal.

Medicamento biológico o producto biológico: Es aquel medicamento de uso y consumo humano obtenido a partir de microorganismos, sangre u otros tejidos, cuyos métodos de fabricación pueden incluir uno o más de los siguientes elementos:

- Crecimiento de cepas de microorganismos en distintos tipos de sustratos.
- Empleo de células eucariotas.
- Extracción de sustancias de tejidos biológicos, incluidos los humanos, animales y vegetales.
- Los productos obtenidos por ADN recombinante o hibridomas.
- La propagación de microorganismos en embriones o animales, entre otros.

INSTRUCTIVO EXTERNO EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD	CÓDIGO	IE-B.3.2.1-MB-01
	VERSIÓN	1.0
	Página 7 de 8	

Son considerados medicamentos biológicos:

- a. Vacunas;
- b. Hemoderivados procesados y afines;
- c. Medicamentos biotecnológicos y biosimilares, y
- d. Otros biológicos como:
 - o Alérgenos de origen biológico.
 - o Sueros inmunes.
 - o Otros que la autoridad sanitaria determine, previo al cumplimiento de los requisitos establecidos para su categorización.

Medicamento biotecnológico.- Se consideran aquellos productos de origen biológico de tipo proteico obtenidos por procesos biotecnológicos (ingeniería genética), u obtenidos por medio de técnicas de combinación de ácidos nucleicos del ADN recombinante, tecnología de hibridomas o líneas celulares continuas transformadas, expresadas en tejidos animales o en formas de vida microbiana, incluyendo a los anticuerpos monoclonales, enzimas, hormonas, citoquinas. En su mayoría estos productos son empleados en terapias de enfermedades crónicas.

Medicamento biológico de referencia.- Es aquel utilizando como comparador en los estadios de comparabilidad para el registro de biosimilares, a fin de demostrar similaridad en términos de calidad, seguridad y eficacia. Solo un medicamento que haya sido autorizado sobre la base de un expediente o dossier de registro completo a nivel nacional o internacional, ante autoridades reguladoras de alta vigilancia, o ante aquellas reconocidas como autoridades de referencia regional por la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud puede ser utilizado como medicamento biológico de referencia.

Medicamento biosimilar.- Medicamento biológico que ha demostrado mediante el ejercicio de comparabilidad que es similar en términos de calidad, seguridad y eficacia al medicamento biológico de referencia.

MHC.- Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

NAb.- Anticuerpo neutralizante.

PD.- Farmacodinamia.

Plazo: Se entenderá por plazo a los días calendario, es decir se contará todos los días de la semana incluidos sábados, domingos y feriados.

PK.- Farmacocinética.

Principio activo o Ingrediente Farmacéutico Activo (para medicamentos biológicos): Es cualquier sustancia o mezcla de sustancias de origen biológico (tales como: microorganismos, órganos, tejidos, diseños celulares biotecnológicos, entre otros) utilizada en un medicamento, para ejercer actividad farmacológica u otros efectos directos en el diagnóstico, atenuación, tratamiento o

INSTRUCTIVO EXTERNO EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD	CÓDIGO	IE-B.3.2.1-MB-01
	VERSIÓN	1.0
	Página 8 de 8	

prevención de enfermedades o para tener un efecto directo en la restauración, corrección o modificación de las funciones fisiológicas en el humano.

Reacción adversa grave.- Una respuesta inesperada del donante asociada con la inmunización, la cual es fatal, amenaza la vida, ocasiona discapacidad o invalidez, o cuyo resultado puede prolongar una enfermedad o una hospitalización.

RPS.- Resonancia de Plasmón de la Superficie.

Término.- Se entenderá por término a los días hábiles o laborables.

4. INSTRUCCIONES

Siempre se debe investigar la inmunogenicidad de los medicamentos biotecnológicos antes de su autorización de comercialización (registro sanitario). Aunque se haya demostrado que la eficacia y la seguridad de un medicamento biosimilar y un medicamento biológico de referencia son similares, su inmunogenicidad puede seguir siendo diferente.

En la respuesta inmunitaria a un medicamento biotecnológico influyen muchos factores, tales como la naturaleza del principio activo, las impurezas relacionadas con el producto y con el proceso, los excipientes y la estabilidad del producto, la vía de administración, la dosificación y los factores relacionados con el paciente, la enfermedad o el tratamiento.

La inmunogenicidad de un medicamento biotecnológico siempre se debe investigar en seres humanos ya que los datos obtenidos de animales generalmente no son predictivos de la respuesta inmunitaria en las personas.

Para la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas el solicitante de registro sanitario e investigadores involucrados en el desarrollo de proteínas terapéuticas para uso humano deben seguir los lineamientos descritos en el **Anexo 1. Guía para la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas.**

Para la evaluación de la inmunogenicidad de anticuerpos monoclonales destinados a uso clínico in vivo el solicitante de registro sanitario e investigadores involucrados deben seguir los lineamientos descritos en el **Anexo 2. Guía para la evaluación de la inmunogenicidad de anticuerpos monoclonales destinados a uso clínico in vivo.**

5. ANEXOS

ANEXO 1. Guía para la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas GE-B.3.2.1-MB-01-01.

ANEXO 2. Guía para la evaluación de la inmunogenicidad de anticuerpos monoclonales destinados a uso clínico in vivo GE-B.3.2.1-MB-01-02.



ANEXO 1: GUÍA DE USUARIO

GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

Versión [1.0]

Noviembre, 2019

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

CONTENIDO

1. OBJETIVO.....	2
2. INSTRUCCIONES	2

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

1. OBJETIVO

Proporcionar lineamientos a los solicitantes de registro sanitario e investigadores involucrados en el desarrollo de proteínas terapéuticas para uso humano.

2. INSTRUCCIONES

La guía aplica a proteínas y polipéptidos, sus derivados, y productos de los que son componentes, por ejemplo conjugados. Estas proteínas y polipéptidos son producidos principalmente por sistemas de expresión recombinantes o no recombinantes. A lo largo de este instructivo, se utiliza el término “proteína terapéutica”. Este instructivo no aplica a los factores de coagulación, vacunas, o preparaciones heterogéneas de inmunoglobulina, tales como inmunoglobulinas humanas purificadas a partir de plasma.

Para la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas el solicitante de registro sanitario e investigadores involucrados en el desarrollo de proteínas terapéuticas para uso humano deben seguir los siguientes lineamientos:

2.1. FACTORES QUE PUEDEN INFLUIR EN EL DESARROLLO DE UNA RESPUESTA INMUNE CONTRA UNA PROTEÍNA TERAPÉUTICA

2.1.1. Factores específicos de los pacientes que afectan la inmunogenicidad

a. Factores genéticos que modulan la respuesta inmune

Los factores genéticos pueden influir en las respuestas inmunes a una proteína terapéutica y conducir a la variabilidad entre pacientes. La variación genética en el nivel de las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (sus siglas en inglés MHC) y receptores de células T modificará el reconocimiento inmune, mientras que la variación genética en el nivel de los factores de modulación, tales como citoquinas y receptores de citoquinas, puede influir en la evolución y la intensidad de la respuesta.

b. Factores genéticos relacionados con un defecto genético

Cuando se utiliza la proteína terapéutica para la sustitución de una proteína endógena en el que el paciente es deficiente, parcialmente deficiente, o portador de una forma modificada de la contrapartida natural, el antígeno fisiológico puede representar un neo-antígeno y el sistema inmune interpretará la proteína terapéutica como extraño o no propio.

c. Factores relacionados con la edad

Los datos sobre la inmunogenicidad de un grupo de edad no pueden necesariamente ser proyectados a otros, ya que la respuesta inmune a las proteínas terapéuticas puede ser afectada por la edad del paciente. Entre la población pediátrica, los diferentes niveles de maduración del sistema inmunitario se ven dependiendo de la edad, y se puede esperar respuestas inmunes discrepantes a un producto biológico.

Si el producto está indicado para la población pediátrica, por lo general se espera que los estudios clínicos sean llevados a cabo en el grupo de edad correspondiente(s). Si está indicado para personas mayores, debe considerarse la posibilidad de una respuesta inmune potencialmente alterada.

d. Factores relacionados con la enfermedad

Una enfermedad subyacente de un paciente puede ser un factor importante en el contexto del desarrollo de una respuesta inmune no deseada. Los pacientes con sistemas inmunes activadas (por ejemplo aquellos que sufren de infecciones crónicas, alergias y enfermedades autoinmunes/autoinflamatorias), pueden ser más propensos a la respuesta inmune a las proteínas terapéuticas. En otras condiciones (por ejemplo malnutrición, una enfermedad maligna avanzada, enfermedad avanzada por VIH, insuficiencia orgánica), una respuesta inmune podría ser menos probable que ocurra debido a un sistema inmunitario deteriorado.

Para algunos productos, se ha reportado que el desarrollo de una respuesta de anticuerpos puede variar para diferentes indicaciones terapéuticas o diferentes etapas de la enfermedad. Las respuestas de anticuerpos también pueden modificarse en respuesta a infecciones víricas acompañantes.

e. Tratamiento concomitante

Terapias concomitantes pueden disminuir o aumentar el riesgo de una respuesta inmune a una proteína terapéutica. Típicamente, se reduce la reacción inmune contra una proteína terapéutica cuando los agentes inmunosupresores se usan de forma concomitante. Sin embargo, una respuesta inmune contra un producto terapéutico es el resultado de muchos factores, por ejemplo, radiación previa o concomitante o de exposición del medio ambiente, y por lo tanto conclusiones sobre el impacto potencial de la administración simultánea de medicación inmunomoduladora no son sencillos. Las consideraciones deben tomarse en cuenta también en los tratamientos previos que pueden influir en la reacción inmune a una proteína terapéutica y puede tener un impacto en el sistema inmunológico. Si los ensayos clínicos de un producto con una sustancia activa nueva se llevan a cabo en combinación con inmunosupresores, una demanda para el uso de la droga de proteína en monoterapia debe ir acompañado de datos clínicos adecuados sobre el perfil de inmunogenicidad en ausencia de agentes inmunosupresores.

f. Factores relacionados con el tratamiento

Una respuesta inmune a una proteína terapéutica puede estar influenciada por la dosis, programa de dosificación y vía de administración. Los productos administrados por vía intravenosa pueden ser menos inmunogénicos que los fármacos administrados por vía subcutánea o intramuscular. Por inhalación, intradérmica, así como la administración ocular también pueden mejorar las respuestas inmunes hacia la proteína terapéutica. El tratamiento a corto plazo es por lo general menos probable que se asocie con una respuesta inmune perjudicial que el tratamiento a largo plazo. Una re-exposición después de un largo intervalo libre de tratamiento puede estar asociada con una respuesta inmune mejorada.

g. Anticuerpos preexistentes

Anticuerpos pre-existentes (pre-ABS) son anticuerpos endógenos que son específicos o de reacción cruzada para epítopos en proteínas o glicanos superpuestos con epítopos proteicos terapéuticos. Anticuerpos preexistentes puede resultar de la exposición previa a proteínas similares o relacionadas, pero también se encuentran en pacientes sin tratamiento previo. El origen exacto generalmente se desconoce.

2.1.2. Factores específicos de los productos que afectan la inmunogenicidad

Existen factores específicos de los productos que pueden aumentar o disminuir el potencial de una respuesta inmune y los riesgos asociados con la misma. El solicitante debe considerar hacer una evaluación de la inmunogenicidad cuando se hacen cambios a factores específicos de los productos.

a. Origen del producto (humano o externo)

Las respuestas inmunes a proteínas no humanas (es decir externas) son esperadas y, pueden ser anticipadas para proteínas humanas endógenas. Más aún, los desajustes entre las secuencias de una proteína endógena del paciente y las secuencias de la proteína terapéutica, causadas por polimorfismos que ocurren naturalmente, son un factor de riesgo para el desarrollo de respuestas inmunes a la proteína terapéutica. Sin embargo, la velocidad de desarrollo de la respuesta, su fuerza (título) y persistencia pueden depender de varios factores, incluidos los siguientes: exposición ambiental previa o continua y la modalidad de tal exposición; la presencia en el producto de factores inductores de inmunidad como agregados de producto y auxiliares de formulación activos; y la actividad inmuno-moduladora inherente al producto (**ver sección 2.1.2 literal f.**). Por ejemplo, la exposición ambiental a proteínas bacterianas de bacterias comensales o patógenas en la piel o en el intestino pueden predisponer la generación de respuestas inmunes cuando tales proteínas bacterianas (tanto recombinantes como derivadas naturalmente) son usadas como terapéuticas.

En relación con proteínas que se derivan de fuentes naturales, pueden desarrollarse anticuerpos no sólo contra la proteína terapéutica deseada, sino contra otros componentes proteicos externos potencialmente presentes en el producto. Inclusive, tales proteínas externas pueden contener regiones de homología hacia proteínas humanas endógenas. La capacidad de una proteína externa para romper la tolerancia e inducir respuestas de anticuerpos al factor humano homólogo debe ser evaluada en el ensayo clínico. Por ejemplo, durante el tratamiento con un producto de trombina bovina, la respuesta inmune al factor V de coagulación bovina, presente incidentalmente en el producto, condujo al desarrollo de anticuerpos que reaccionaron de manera cruzada con el factor V humano y resultó en un sangrado amenazante de la vida en algunos pacientes.

En relación con los anticuerpos monoclonales, el origen del producto es un factor importante que puede influenciar la inmunogenicidad. Aunque los anticuerpos de ratones han mostrado provocar, de manera robusta, reacciones inmunes en humanos en comparación con los anticuerpos monoclonales quiméricos, humanizados y humanos, debe notarse que éstos últimos también pueden provocar inmunogenicidad en altas proporciones dependiendo del régimen de dosis y la población de pacientes. De hecho, algunos anticuerpos humanos desarrollados al usar fagos pueden generar respuestas ADA significativas.

Es más, formatos estructurales novedosos, incluyendo las proteínas de fusión, anticuerpos bio-específicos o multi-específicos (bivalentes o trevalentes), fragmentos de cadena única, anticuerpos de dominio único y anticuerpos de ingeniería específica con mutaciones en las regiones constantes o variables, pueden provocar respuestas inmunes, dado que dichas estructuras novedosas pueden crear neo-antígenos o exponer epítomos crípticos. Adicionalmente, mutaciones de sitios específicos en regiones constantes pueden crear

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

alotipos novedosos y el uso de un proceso in vitro de maduración de la afinidad puede resultar en idiotipos novedosos. La comprensión de la inmunogenicidad incrementada asociada con ciertos productos de anticuerpos requerirá una caracterización más completa de la respuesta ADA, como por ejemplo la identificación del epítipo/epítipos.

Todos los productos de proteínas terapéuticas deben ser evaluados por su contenido y las respuestas inmunes dirigidas a los componentes del producto, incluyendo proteínas y componentes no proteicos. Una evaluación basada en el riesgo de posibles respuestas inmunes a este tipo de proceso y de impurezas relacionadas con el producto debe ser realizado, y un programa de pruebas debe ser diseñado sobre la base de esta evaluación. Las proteínas extrañas destinadas para uso terapéutico deben ser evaluadas para las regiones moleculares que llevan fuerte homología con proteínas humanas endógenas. Cuando existen tales homologías, la evaluación de anticuerpos frente a la proteína humana homóloga debe hacerse además de la evaluación de anticuerpos frente a la proteína terapéutica extranjera. En el desarrollo de ensayos para evaluar la inmunogenicidad de los productos relacionados de anticuerpos novedosos, controles apropiados deben ser incorporados en los ensayos para determinar si la respuesta de ADA es direccionada contra epítipos nuevos.

b. Estructura Molecular Primaria / Modificaciones postraslacionales

Las secuencias primarias, las estructuras de alto orden, el origen de las especies y el peso molecular de las proteínas terapéuticas, son factores importantes que pueden contribuir a la inmunogenicidad. El análisis de la secuencia primaria puede revelar diferencias en las secuencias potencialmente inmunogénicas en las proteínas que de otra manera están relativamente conservadas entre humanos y animales. En algunos casos, epítipos no humanos pueden inducir la respuesta de células T o promover la generación de epítipos humorales (anticuerpos) frente a secuencias humanas conservadas. Según la sección 4.1.1 literal b, es importante notar que las proteínas terapéuticas de origen humano pueden provocar respuestas inmunes en subgrupos de pacientes con haplotipos HLA particulares, así como en pacientes cuya secuencia de aminoácidos de la proteína endógena difiere de aquella de la proteína terapéutica, incluso en un solo nucleótido.

Los análisis avanzados adicionales de las secuencias primarias también pueden probablemente detectar epítipos de unión a HLA de la clase II en proteínas humanas no polimórficas. Tales epítipos pueden provocar y activar células T regulatorias, las cuales refuerzan la auto-tolerancia, o, por el contrario, pueden activar células T ayudantes (Th) cuando la inmuno-tolerancia a las proteínas endógenas no es robusta. Sin embargo, si se considera apropiado, la ingeniería de los cambios de la secuencia primaria para eliminar epítipos en células Th inmunogénicas o la adición de epítipos en células T tolerogénicas debe hacerse de manera cautelosa porque estas modificaciones pueden alterar atributos críticos de calidad del producto como la agregación, la desaminación y la oxidación y pueden por lo tanto alterar la estabilidad y la inmunogenicidad del producto. En consecuencia, deben realizarse evaluaciones y pruebas extensivas de los atributos críticos del producto, después de tales cambios. Las consideraciones sobre la secuencia primaria son especialmente importantes en la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas de fusión porque pueden provocarse respuestas inmunes a neo-antígenos formados en la región de unión y pueden luego extenderse a segmentos conservados de la molécula. Las proteínas de fusión formadas por una proteína externa y una endógena son de particular cuidado por la capacidad de la

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

proteína externa de inducir a una respuesta de células T frente a la proteína endógena. De manera similar, las proteínas de bioingeniería comprenden la introducción de secuencias que no se encuentran normalmente en la naturaleza y por lo tanto puede contener neo-epítomos. Estos epítomos tienen el potencial amplio de provocar respuestas inmunes o pueden, en su lugar, interactuar con alelos HLA que se encuentran sólo en un subgrupo de pacientes con el fin de inducir respuestas inmunes.

Las modificaciones químicas de las proteínas terapéuticas, tales como la oxidación, la desaminación, la modificación aldehídica y la deiminación, pueden provocar respuestas inmunes por ejemplo al modificar la secuencia primaria, causar formación de agregados o alterar el procesamiento y la presencia de antígenos. Es importante tener en cuenta que tales cambios pueden estar bien controlados durante la manufactura y el almacenamiento, pero pueden ocurrir in vivo en un contexto de un pH relativamente alto del entorno in vivo o en entornos inflamatorios y pueden causar pérdida de la actividad, así como provocar respuestas inmunes. La evaluación de la proteína terapéutica en el contexto del entorno in vivo para el cual son blanco puede revelar la susceptibilidad de tales modificaciones químicas. La susceptibilidad a las modificaciones de las proteínas terapéuticas y por lo tanto la posibilidad de pérdida de la actividad o la inducción a respuesta inmunes in vivo, deben estimular la reflexión en torno a una ingeniería cuidadosa de las proteínas.

Se recomienda llevar a cabo ensayos con capacidad de evaluar la reactividad a la totalidad de la molécula, así como a sus distintos componentes. Se debe otorgar especial cuidado a las secuencias primarias escogidas para el desarrollo de las proteínas terapéuticas en general y especialmente a las que son contrapartes de proteínas endógenas, dados los potenciales polimorfismos de las proteínas endógenas a través de las poblaciones humanas. Las respuestas ADA a las moléculas de fusión o versiones de ingeniería de proteínas terapéuticas, deben evaluarse por medio de ensayos que sean capaces de determinar la reactividad a la totalidad de la molécula, así como a sus distintos componentes. Las respuestas inmunes dirigidas al producto proteico intacto pero que no sean reactivas con ninguna de las proteínas asociadas pueden no tener como blanco epítomos novedosos en la región de fusión.

La evaluación de proteínas terapéuticas en el medio in vivo en el que funcionan (por ejemplo en ambientes inflamatorios en pH fisiológico) puede revelar susceptibilidades a las modificaciones (por ejemplo agregación o desaminación) que resultan en la pérdida de la eficacia o en la inducción de respuestas inmunes. Esta información puede facilitar la ingeniería del producto para aumentar su estabilidad ante tales circunstancias de estrés. Los solicitantes deben considerar obtener esta información en fases tempranas de diseño y desarrollo del producto.

c. Estructura Cuaternaria: Agregados del Producto y Medición de los Agregados

Los agregados proteicos están definidos como cualquier especie de proteína auto-asociada, con monómero definido como la sub-unidad funcional más pequeña y/o que ocurre naturalmente. Los agregados se clasifican así mismo con base en 5 características: tamaño, reversibilidad/disociación, conformación, modificación química y morfología. Se reconoce desde hace más de medio siglo, que los agregados cuyo rango de tamaño va desde un dímero hasta cientos de micro-metros, tienen un potencial de provocar respuestas inmunes a

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

proteínas terapéuticas. Los mecanismos por los cuales los agregados proteicos pueden provocar o aumentar las respuestas inmunes son los siguientes: unión cruzada extensiva de receptores de células B; activación eficiente de células B; aumento del consumo, procesamiento y presencia de antígenos; disparo de las señales peligrosas inmunoestimulantes. Tales mecanismos pueden aumentar el reclutamiento de células T ayudantes necesarias para la generación de anticuerpos IgG de alta afinidad o diversos isotipos, que es la respuesta de anticuerpos más frecuentemente asociada con la neutralización de la eficacia del producto.

Las potenciales consecuencias clínicas de las respuestas inmunes inducidas por los agregados proteicos pueden depender, en gran medida, de la pérdida de la preservación de epítomos nativos en el agregado. Algunos anticuerpos generados por los agregados que contienen proteínas nativas pueden unirse a la proteína monomérica así como al agregado, con el potencial de inhibir o neutralizar la actividad del producto. En contraste, algunos anticuerpos a proteínas desnaturalizadas/degradadas se unen únicamente a material agregado, pero no a monómeros de proteínas nativas, como en el caso de las preparaciones recientes de inmunoglobulina humana intravenosa (IVIg). Se ha demostrado que las respuestas a los agregados que contienen epítomos degradados causan anafilaxia, pero no inhiben o neutralizan la actividad de la proteína nativa.

Falta información crítica sobre los tipos y cantidades de agregados que se requieren para generar respuestas inmunes en relación con cualquier proteína terapéutica, aunque hay evidencia de que agregados de altos pesos moleculares y partículas son más potentes para provocar tales respuestas que los agregados de pesos moleculares más bajos. Los agregados que se forman y las cantidades que de manera eficiente provocan una respuesta inmune, también pueden diferir entre distintos productos y en diversos escenarios clínicos. Es más, el uso de cualquier método particular para la evaluación de agregados no es suficiente para proporcionar una medida robusta de la agregación de proteínas. Por ejemplo, el uso exclusivo de cromatografía de exclusión de tamaño puede excluir la detección de agregados de altos pesos moleculares que no atraviesan el pre-filtro de la columna pero que pueden ser las especies más cruciales en la generación de respuestas inmunes. Así mismo, ha sido reconocido que partículas sub-visibles que están en el rango de tamaño de 0.1 a 10 micras, tienen un alto potencial de ser inmunogénico, pero no son detectadas por las tecnologías actualmente empleadas. Estos grandes agregados pueden contener miles de millones de moléculas de proteínas y pueden ser homogéneas o heterogéneas (por ejemplo, moléculas de proteínas que se adhieren a partículas de vidrio o de metal).

Es crítico que los fabricantes de proteínas terapéuticas minimicen al máximo la agregación de proteínas. Deben desarrollarse estrategias para minimizar la formación de agregados en las fases tempranas de desarrollo del producto. Esto puede hacerse usando el sustrato de células apropiado, empleando un sistema de purificación robusto que remueva los agregados al máximo y escogiendo la formulación (**ver sección 2.1.2 literal g**) y el sistema de envase/cierre (**ver sección 2.1.2 literal h**) que minimice la agregación durante el almacenamiento. Es particularmente importante que el establecimiento de la fecha de expiración del producto tome en cuenta cualquier aumento en los agregados proteicos asociados con la desnaturalización o degradación durante el almacenamiento.

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

Deben emplearse métodos que de manera individual o combinada aumenten la detección de agregados proteicos con el fin de caracterizar distintas especies de agregados en el producto. Los métodos para medir la agregación cambian y mejoran constantemente lo cual debe ser considerado al escoger uno o más ensayos apropiados. Los ensayos deben estar validados para el uso en evaluaciones rutinarias de liberación de lotes y de estabilidad y deben emplearse varios de ellos para las evaluaciones de comparabilidad. Los estudios en animales pueden ser útiles para identificar especies agregadas que tengan el potencial de ser inmunogénicas, aunque otras consideraciones (cantidad y tipo de agregados, ruta de administración, etc.) pueden determinar hasta qué punto tales especies agregadas constituyen un riesgo clínico.

Debe hacerse una evaluación del rango y los niveles de partículas sub-visibles (2 a 10 micras) presentes en la proteína terapéutica al inicio y durante el tiempo de almacenamiento. Actualmente existen varios métodos calificados para evaluar el contenido de partículas sub-visibles que estén en ese rango de tamaño. En la medida en que más métodos se hacen disponibles, los solicitantes deben esforzarse por caracterizar partículas de rangos de tamaño inferiores (0.1 – 2 micras). Los solicitantes deben realizar una evaluación de riesgo del impacto de estas partículas en el desempeño de la proteína terapéutica y desarrollar estrategias de control y mitigación con base en esa evaluación, según sea necesario.

d. Glicosilación / Pegilación

La glicosilación puede modular fuertemente la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas. Aunque glico-formas externas como los azúcares xenogénicos de mamíferos (mammalian xenogenic sugars) o azúcares vegetales pueden desencadenar respuestas inmunes vigorosas, tanto innatas como adquiridas, la glicosilación de las proteínas con azúcares mamíferas conservadas aumenta la solubilidad del producto y disminuye su agregación e inmunogenicidad. La glicosilación altera de manera indirecta la inmunogenicidad de la proteína al minimizar su agregación así como al proteger al sistema inmune de los epítomos inmunogénicos. Se ha encontrado que la pegilación de las proteínas terapéuticas disminuye su inmunogenicidad vía mecanismos similares, aunque se ha reconocido que las respuestas inmunes al polietilenglicol (PEG) en sí mismas causan pérdida de la eficacia del producto y consecuencias adversas de seguridad. También se ha encontrado que Anticuerpos anti-PEG reaccionan de manera cruzada entre productos pegilados.

En general la glicosilación de proteínas con azúcares de mamíferos disminuye su potencial inmunogénico. De igual manera la pegilación disminuye inmunogenicidad, se recomienda que el ensayo de ADA detecte tanto los anticuerpos anti-proteínas como los anticuerpos contra fracciones de PEG u otras entidades de alto peso molecular, por ejemplo hidroxietilalmidón.

e. Impurezas con actividad coadyuvante

La actividad auxiliar puede surgir a través de múltiples mecanismos, incluida la presencia de impurezas relacionadas con microbios o células huésped presentes en las proteínas terapéuticas. Estas respuestas inmunes innatas moduladas por las impurezas (IIRMI en inglés), incluidas liposacáridos, β -glucan, proteína de alta movilidad del grupo B1 (HMGB1) y ácidos nucleicos ejercen una actividad inmune incrementada al unirse e inducir señalización

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO

GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

por medio de los receptores tipo peaje u otros patrones de receptores de reconocimiento presentes en las poblaciones celulares de interés. Esta señalización estimula la maduración de células que presentan antígeno y/o sirve directamente para estimular la producción de anticuerpos de células B.

Es muy importante que los fabricantes minimicen los tipos y cantidades de las impurezas presentes en las proteínas terapéuticas relacionadas con microbios o con células huésped. Se recomienda llevar a cabo pruebas sensibles para evaluar los tipos de respuestas inmunes innatas moduladas por las impurezas (IIRMI) que estén presentes, ya que inclusive trazas de IIRMI pueden modificar la inmunogenicidad de una proteína terapéutica, y se requiere medir los niveles que puedan conducir a respuestas inmunes de relevancia clínica. Si se usan biomarcadores para detectar y comparar la presencia de IIRMI, estos deben ajustarse a los IIRMI que puedan estar presentes en el producto. Ejemplos de biomarcadores pueden incluir aquellos para liberación de citoquinas y activación de factor de transcripción de poblaciones de células definidas.

f. Propiedades inmuno-moduladoras de las proteínas terapéuticas.

La actividad inmuno-moduladora de cualquier proteína terapéutica influye de manera crítica no solo en la respuesta inmune dirigida hacia sí misma, sino en las respuestas dirigidas a otras proteínas terapéuticas co-administradas con proteínas endógenas o incluso a drogas de moléculas pequeñas y puede no ser predecible. Por ejemplo, el interferón alfa, la interleuquina 2 y los factores estimulantes de colonias de granulocitos –GM-CSF, en inglés- no solo son relativamente inmunogénicos por sí mismos sino que también se sabe que estimulan la regulación de las respuestas inmunes a las proteínas endógenas y que inducen auto-inmunidad clínica. Las proteínas terapéuticas inmuno-supresoras pueden en general inhibir la regulación de las respuestas inmunes, aumentando la posibilidad de infecciones serias. Sin embargo, no todas las proteínas terapéuticas inmuno-supresoras suprimen las respuestas hacia sí mismas. Por ejemplo, las integrinas y los anticuerpos monoclonales factor de necrosis tumoral (TNF, en inglés) tienden a ser inmunogénicos. Por lo tanto, la inmunogenicidad a tales proteínas terapéuticas debe evaluarse empíricamente.

Se recomienda tener en cuenta las propiedades inmuno-moduladoras de las proteínas terapéuticas, sus efectos en las respuestas inmunes hacia sí mismas y su capacidad de inducir auto-inmunidad desde las primeras etapas de desarrollo del producto.

Se debe evitar la vacunación con organismos vivos atenuados cuando la proteína terapéutica es inmunosupresora. Se recomienda que antes de aplicar una proteína terapéutica se tenga actualizado el estado de vacunación del paciente según estándares de salud nacionales. Esta información deberá ser incluida en los planes de gestión de riesgo y será verificada en los procesos de vigilancia post-comercialización.

g. Formulación

Los componentes de formulación se escogen principalmente por su capacidad de preservar la conformación nativa de la proteína terapéutica durante el almacenamiento al prevenir la desnaturalización debida a las interacciones hidrofóbicas así como al prevenir la degradación

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

química incluida la truncación, oxidación, y desaminación. Los excipientes de formulación de gran tamaño como la albúmina de suero humano (sus siglas en inglés HSA) pueden afectar la inmunogenicidad de manera positiva o negativa. Aunque los excipientes tales como la HSA, se añaden por su capacidad de inhibir reacciones hidrofóbicas, pueden co-agregarse con la proteína terapéutica o formar aductos proteicos cuando esté bajo condiciones sub-óptimas de almacenamiento. El polisorbato, un detergente no iónico, es la alternativa al HSA más utilizada. La estabilidad de ambos tipos de excipientes (esto es, HSA y polisorbato) debe tomarse en cuenta para propósitos de la formulación porque son muy susceptibles a las modificaciones (por ejemplo la oxidación), lo cual puede constituir una amenaza a la integridad de la proteína terapéutica.

La formulación también puede afectar la inmunogenicidad del producto al alterar el espectro de lixiviables del sistema de envase - cierre. Se ha demostrado que los lixiviables de los tapones de caucho poseen actividad inmune auxiliar, como se demostró en un experimento en animales. Los compuestos orgánicos con actividad inmunológica, así como los metales, pueden haber sido eluidos de materiales del cierre del envase por formulaciones que contienen polisorbato, lo cual lleva a un incremento de la oxidación y la agregación.

Se recomienda evaluar la capacidad de los excipientes para mantener la estabilidad de la proteína. Este análisis tendrá que llevarse a cabo durante la etapa de formulación y estudios de estabilidad. Por lo tanto los excipientes deben ser evaluados para determinar su potencial de prevenir la desnaturalización y degradación de las proteínas terapéuticas durante el almacenamiento. Las interacciones entre excipientes y las proteínas terapéuticas deben evaluarse de manera cuidadosa, especialmente en términos de co-agregación o formación de aductos de excipientes de proteínas.

La estabilidad de los excipientes debe considerarse de manera cuidadosa al establecer la vida del producto en percha. Debe realizarse un análisis completo de los lixiviables y los extraíbles, para evaluar la capacidad de interacción del material de cierre del envase con la proteína terapéutica o su capacidad de modificarla. Debe realizarse una evaluación del riesgo y deben desarrollarse estrategias de control y mitigación del riesgo, según sea necesario.

h. Consideraciones sobre el sistema de envase/cierre

Las interacciones entre proteínas terapéuticas y el sistema de envase/cierre pueden afectar de manera negativa la calidad del producto y la inmunogenicidad. Estas interacciones son más probables con jeringas pre-llenadas y materiales que interactúan con la proteína terapéutica durante un período de tiempo prolongado y por lo tanto tienen el potencial de alterar la calidad del producto y su inmunogenicidad. A continuación se presentan otras consideraciones sobre el sistema envase/cierre relevantes para la inmunogenicidad.

- Las interfaces de vidrio y de aire pueden desnaturalizar las proteínas y causar agregación en jeringas de vidrio y en viales.
- Se sabe que los viales de vidrio se deslaminan o degradan a pH altos y con formulaciones de citrato, lo cual potencialmente crea partículas de vidrio con capas de proteínas las cuales pueden realzar la inmunogenicidad de la proteína terapéutica.
- Los componentes de las jeringas cubiertas de aceite de silicona, proveen un entorno químico y estructural en el cual las proteínas pueden desnaturalizarse o agregarse.

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO

GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

- Deben realizarse estudios apropiados de estabilidad durante el uso para confirmar que las condiciones necesarias para mantener la calidad del producto y prevenir la degradación están adecuadamente definidas.
- Materiales lixiviados del sistema de envase/cierre pueden ser una fuente de materiales que aumentan la inmunogenicidad, tanto al modificar la proteína terapéutica o al tener una actividad coadyuvante directa, que incluye lo siguiente:
 - Compuestos orgánicos con actividad inmuno-moduladora pueden ser eluidos del sistema de envase/cierre por formulaciones que contienen polisorbatos: se encontró un compuesto orgánico lixiviado involucrado en la vulcanización en producto formulado con polisorbato cuando las superficies del tapón no estaban cubiertas de teflón.
 - Los metales que oxidan o agregan proteínas terapéuticas o que activan metaloproteinasas han sido encontrados en varios productos contenidos en jeringas pre-llenadas o viales. Por ejemplo ha sido reportado que el óxido de tungsteno lixiviado del cilindro de la jeringa causa agregación de proteínas; y que metales lixiviados de los tapones del vial causaron un incremento de la proteólisis de una proteína terapéutica por la activación de una metaloproteinasa que co-purificaba con el producto.

Se recomienda el análisis de los materiales de envase y cierre. Este análisis tendrá que llevarse a cabo durante la etapa de formulación y estudios de estabilidad. El solicitante debe allegar información detallada sobre la descripción de todas las materias primas usadas en la manufactura del sistema de cierre del envase usado en sus productos. Los solicitantes deben realizar análisis de laboratorio exhaustivos sobre los extraíbles y los lixiviados, usando múltiples técnicas analíticas para evaluar los atributos del sistema de cierre del envase puedan interactuar con la proteína terapéutica o degradarla.

Se deben evaluar los lixiviados de los sistemas envase/cierre elastoméricos de productos inyectables bajo condiciones de almacenamiento en tiempo real.

Deben realizarse pruebas en el producto para detectar lixiviados bajo condiciones de estrés, así como bajo condiciones de almacenamiento en tiempo real, dado que en algunos casos la cantidad de lixiviados aumenta a lo largo del tiempo en temperaturas elevadas. Deben realizarse pruebas sobre la compatibilidad el producto para medir los efectos de los materiales del sistema de cierre y todos los lixiviados sobre la calidad le producto.

i. Custodia del producto

Los productos con su sistema de cierre de los empaques primarios establecidos, deben ser examinados en su estabilidad con protocolos que incluyan condiciones apropiadas durante el uso (por ejemplo luz, temperatura y agitación) para identificar condiciones y prácticas que puedan causar la desnaturalización y degradación del producto.

Dado que la mayoría de las proteínas terapéuticas se degradan al ser expuestos al calor y a la luz o con la agitación mecánica, los profesionales de la salud y los pacientes deben ser educados sobre el almacenamiento, manejo y administración del producto con el fin de

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

asegurar su calidad. Esta información deberá ser incluida en los planes de gestión de riesgo y será verificada en los procesos de vigilancia post-comercialización.

Es crítico que la cadena de suministro sea segura. El transporte con control de temperatura y almacenamiento apropiados es de la mayor importancia para preservar la calidad del producto. Por ejemplo, el almacenamiento de una proteína alfa, bajo condiciones inapropiadas por vendedores no autorizados se asoció con altos niveles de agregados y aplasia pura de células rojas medida por anticuerpos.

Se recomienda que el prospecto para el paciente identifique explícitamente las condiciones de almacenamiento y manipulación apropiadas del producto. Las instrucciones apropiadas para los cuidadores de los pacientes es vital para asegurar la calidad del producto y ayudar a minimizar los impactos adversos sobre la calidad del producto durante el almacenamiento y manipulación de los productos. Debe garantizarse una temperatura apropiada controlada durante el transporte y el almacenamiento.

2.2. POTENCIALES CONSECUENCIAS CLÍNICAS DE LA INMUNOGENICIDAD

El propósito de investigar la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas es entender las consecuencias clínicas; es decir, consecuencias para PK, PD, eficacia y seguridad. Los factores que determinan si los anticuerpos a una proteína terapéutica tendrán consecuencias clínicas, incluye, por ejemplo, el epítipo reconocido por el anticuerpo y la afinidad y la clase del anticuerpo. Además, la capacidad de los complejos inmunes para activar el complemento puede tener un impacto en el resultado clínico.

2.2.1. Consecuencias sobre la Eficacia

Los anticuerpos antifármacos (ADAs) pueden afectar a la eficacia de una proteína terapéutica, ya sea por interferir con la interacción farmacodinámica entre la proteína terapéutica y su objetivo o mediante la alteración de su perfil farmacocinético. Cuando un ADA se une a o se encuentra cerca del sitio activo de una proteína terapéutica o induce cambios conformacionales, la unión de la proteína terapéutica a los receptores pertinentes pueden ser inhibidos. Estos ADAs se designan generalmente como anticuerpos neutralizantes.

Los ADAs pueden cambiar la exposición de la proteína terapéutica, ya sea aumentando o disminuyendo el aclaramiento de la proteína terapéutica. Cuando la exposición se reduce debido al aclaramiento mejorado, o se incrementa, estos ADAs son designados por lo general anticuerpos aclarantes o de mantenimiento, respectivamente. Los ADAs inducidos contra una proteína terapéutica puede tener propiedades tanto neutralizantes y de aclaramiento de sostenimiento. Por lo general, se espera que los anticuerpos no neutralizantes, los anticuerpos no aclarantes estén asociados con pocas consecuencias clínicas relacionadas con la eficacia. Los efectos de ADAs en proteínas terapéuticas pueden variar de cero a la pérdida completa de la eficacia.

La exposición previa a proteínas similares o relacionadas resultantes de una pre-existente reactividad puede modificar la respuesta a una nueva proteína terapéutica (afecta PK, eficacia o seguridad).

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

Consecuencias de estos anticuerpos podrían ser graves, por ejemplo, para los pacientes que reciben productos de sustitución como factores de coagulación de la sangre o la terapia de reemplazo de enzimas, ya que los anticuerpos anteriores pueden reaccionar de forma cruzada con el producto proteínico recién introducido, eliminando el efecto. Por lo tanto, el potencial de reactividad cruzada con anticuerpos preexistentes debe ser considerado.

2.2.2. Consecuencias sobre la seguridad

Las consecuencias para la seguridad de la inmunogenicidad pueden variar ampliamente y a menudo son impredecibles en pacientes a los que se les administran proteínas terapéuticas. De esta manera, debe mantenerse un alto nivel de sospecha para los eventos clínicos que pueden originarse en tales respuestas, incluso si la evaluación de riesgo inicial sugiere un bajo nivel de inmunogenicidad. El solicitante debe proveer una base lógica del paradigma propuesto de evaluación de la inmunogenicidad. En las siguientes secciones se describen algunas de las más importantes preocupaciones sobre seguridad asociadas a la inmunogenicidad:

a. Anafilaxis

La anafilaxis es una reacción alérgica seria y aguda identificada por ciertas características clínicas. La definición actualmente aceptada se basa en criterios de diagnóstico clínico y no especifica un mecanismo inmunológico particular. Históricamente, la definición de anafilaxis involucra la participación de anticuerpos IgE específicos. Sin embargo, una definición tan mecánica puede ser problemática en el contexto del desarrollo de proteínas terapéuticas y en otros escenarios clínicos en los que no siempre es posible identificar un mecanismo inmunológico específico, como base del evento adverso. Para capturar todos los potenciales eventos adversos de interés, se recomienda identificar todos los casos que cumplan con los criterios clínicos de anafilaxis, independientemente de la fisiopatología presumida. Información adicional como la evaluación de la histamina y de la triptasa séricas, así como de las fracciones del complemento luego de una reacción o de la detección de anticuerpos IgE asociados a un producto específico, pueden ayudar a dilucidar la fisiopatología de la respuesta anafiláctica y, por lo tanto, guiar las estrategias de control y mitigación.

Más aún, la sola presencia de anticuerpos anti-fármaco (ADA) no es necesariamente predictiva de reacciones anafilácticas o de hipersensibilidad. Para determinar la relevancia clínica de estos anticuerpos es típicamente requerida una correlación con respuestas clínicas. La determinación del mecanismo subyacente sigue siendo de interés porque la anafilaxis con confirmación de la participación IgE, tiene ciertas implicaciones pronósticas para exposiciones repetidas y también para potenciales opciones terapéuticas de mitigación.

b. Síndrome de liberación de citoquinas

El síndrome de liberación de citoquinas es un complejo sintomático causado por la rápida liberación de citoquinas pro-inflamatorias por células inmunes. Aunque el síndrome de liberación de citoquinas no está directamente relacionado con la inmunogenicidad, la manifestación clínica de dicho síndrome se puede sobreponer a anafilaxis y otras reacciones adversas inmunológicamente relacionadas. Distinguir este complejo sintomático de otros

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO

GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

tipos de reacciones adversas es potencialmente útil para propósitos de mitigación del riesgo. Aunque los mecanismos subyacentes puedan no ser comprendidos en su totalidad, en algunos casos el mecanismo parece estar relacionado a la reactividad cruzada de células que activan receptores expresados en la superficie, los cuales son el objetivo de la proteína terapéutica (por ejemplo CD28 expresado en células T). En la fase temprana del desarrollo clínico debe realizarse una evaluación basada en el riesgo, enfocada en el mecanismo de acción de la proteína terapéutica, así como en resultados de evaluaciones en animales e in vitro deben desarrollarse para determinar la necesidad de colección de los niveles de citoquinas antes y después de la dosis en la fase temprana de desarrollo clínico. En caso de un evento adverso clínico, tal evaluación contribuye a la evidencia para apoyar el diagnóstico clínico del síndrome de liberación de citoquinas y contribuir a distinguirlo de otras reacciones medicamentosas agudas (por ejemplo, anafilaxis).

c. Reacciones de infusión

Las proteínas terapéuticas pueden provocar un amplio rango de efectos agudos: desde leves reacciones sintomáticas, hasta reacciones repentinas y fatales que en el pasado han sido frecuentemente agrupadas como “reacciones de infusión o de administración”. Aunque el término implica cierta relación temporal no está bien definido y pueden abarcar un amplio rango de eventos clínicos, incluida la anafilaxis y otros eventos que pueden no estar directamente relacionados con respuestas de anticuerpos, como el síndrome de liberación de citoquinas. En ausencia de una definición consensuada del término “reacción de infusión”, la categorización de ciertos eventos adversos como éste sin más detalles, es problemática y no se recomienda. Por lo tanto es importante que los solicitantes describan detalladamente la temporalidad, la duración y las señales y síntomas específicos observados luego de la administración de una proteína terapéutica y proveer información sobre estudios de los mecanismos de acción que puedan facilitar la estrategia de mitigación.

d. Reacciones no agudas

La anafilaxis, el síndrome de liberación de citoquinas y otras reacciones agudas están relacionadas temporalmente con la administración de proteínas terapéuticas. La hipersensibilidad retardada (como la enfermedad del suero) y las respuestas inmunes secundarias a la formación de complejos inmunes tienen típicamente una manifestación sub-aguda. Como resultado, la asociación entre la administración de la proteína terapéutica y reacciones no agudas, puede ser más difícil de establecer y la evaluación del mecanismo subyacente probablemente requiera el análisis de complejos inmunes circulantes y activación del complemento. Los signos clínicos pueden incluir fiebre, brotes, artralgia, mialgia, hematuria, proteinuria, serositis, complicaciones del sistema nervioso central y la anemia hemolítica frente a una continua respuesta de anticuerpos a la proteína terapéutica. Cuando se sospecha de una reacción como esta, la evaluación de laboratorio de complejos inmunes circulantes puede ayudar a confirmar el diagnóstico. La necesidad y el nivel de detalle de las evaluaciones de laboratorio, dependerá de cada situación individual.

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

e. Reactividad cruzada a proteínas endógenas

Un ADA puede tener consecuencias graves si reacciona de forma cruzada e inhibe un homólogo endógeno no redundante del producto proteico terapéutico o proteínas relacionadas. Si la proteína endógena es redundante en cuanto a la función biológica, la inhibición de las proteínas terapéuticas y endógenas no pueden producir un síndrome clínico evidente hasta que el sistema se estrese, porque no todas las funciones biológicas de una proteína endógena pueden ser conocidas o completamente caracterizadas. Incluso, las consecuencias a largo plazo del uso de tales anticuerpos pueden no ser conocidos. Una consecuencia adicional de la reactividad cruzada con proteínas endógenas resulta en respuestas de anticuerpos a una proteína terapéutica cuyo homólogo endógeno está en una superficie celular o de una citoquina endógena expresada en una membrana. Tales anticuerpos pueden unirse de manera cruzada a los respectivos receptores de la superficie celular o a proteínas, causando liberación de citoquinas u otras manifestaciones de activación celular.

Para las proteínas terapéuticas con homólogos endógenos que son críticas para el desarrollo normal de los fetos o los neonatos, la neutralización de tales proteínas endógenas, derivada de anticuerpos generados contra proteínas terapéuticas que reaccionan cruzadamente con el homólogo endógeno, tiene el potencial de impactar negativamente el desarrollo del feto o del neonato, cuando estas respuestas inmunes son generadas o estimuladas durante el embarazo o la lactancia. Como parte de la evaluación del riesgo, los solicitantes deben considerar la potencial transmisión de anticuerpos al feto a través de la placenta o a través de la leche humana, en neonatos. Así pues, es necesario evaluar el riesgo del desarrollo de anticuerpos neutralizantes luego de la administración de tales proteínas terapéuticas a una mujer en edad fértil, a la luz del potencial beneficio. Aún más se ha de evaluar en población pediátrica el riesgo de desarrollar anticuerpos neutralizantes frente a proteínas endógenas críticas para el crecimiento y desarrollo más allá del período neonatal.

Aunque los estudios en animales pueden proveer información útil sobre las posibles consecuencias de la inhibición de una proteína endógena, particularmente en relación con proteínas altamente conservadas evolutivamente, dichos estudios no son considerados predictivos de la probabilidad de una respuesta inmune en humanos a una proteína terapéutica. Inclusive, diferencias en la medida de la duración y extensión de la transferencia de anticuerpos maternos a través de la placenta puede limitar la utilidad de los estudios en animales para evaluar los efectos intrauterinos de anticuerpos de reacción cruzada con el homólogo endógeno del producto de la proteína terapéutica.

2.3. EVALUACIÓN NO CLÍNICA DE LA INMUNOGENICIDAD Y SUS CONSECUENCIAS

Las proteínas terapéuticas muestran las diferencias entre especies en la mayoría de los casos. Por lo tanto, proteínas humanas (izadas) deben ser reconocidas como proteínas extrañas por los animales. Por esta razón, la capacidad de predicción de los estudios con animales para la evaluación de la inmunogenicidad en los seres humanos se considera bajo. Normalmente no se requieren estudios no clínicos *in vitro* o *in vivo* destinados a predecir la inmunogenicidad en humanos. Sin embargo, consideraciones en curso se deben dar para la utilización de las tecnologías emergentes, que podrían ser utilizadas como herramientas durante el desarrollo o

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

para una primera estimación del riesgo de inmunogenicidad clínica. Los ensayos *in vitro* basados en células inmunes innatas y adaptativas podrían ser útiles en la revelación de las respuestas mediadas por células.

Las preocupaciones de inmunogenicidad pueden surgir de la presencia de impurezas o contaminantes. Es preferible confiar en procesos de purificación para eliminar las impurezas y contaminantes en lugar de establecer un programa de pruebas preclínicas para su calificación. Se espera que los estudios clínicos en los que la inmunogenicidad es evaluada se suministren con material suficientemente representativo del producto medicinal que va a ser colocado en el mercado.

La medición de anticuerpos anti-fármacos en los estudios en animales puede ser necesaria como parte de los estudios de toxicidad de dosis repetidas, con el fin de ayudar en la interpretación de estos estudios (como se indica en la guía “ICH S6 (R1) Guía armonizada tripartita sobre la evaluación de seguridad preclínica de productos farmacéuticos derivados de biotecnología”). Cuando la medición de ADA no es parte del protocolo de estudio, las muestras de sangre deben ser tomadas y almacenadas para las evaluaciones futuras cuando sea necesario para ayudar en la interpretación de los resultados del estudio. Los ensayos utilizados deben ser validados. En estudios toxicológicos, donde usualmente las concentraciones más altas de proteína terapéutica están presentes en las muestras, la interferencia de la proteína terapéutica en los ensayos de ADA necesita ser considerada. En general, no hay necesidad de evaluar la inmunogenicidad en estudios de toxicidad de una sola dosis. Sin embargo, para un estudio de farmacocinética de dosis única la medición de ADA podría ser relevante.

Una respuesta inmune a una proteína terapéutica que representa un homólogo de una proteína endógena puede resultar en la reactividad cruzada, dirigida a la proteína endógena en los casos en que la proteína endógena todavía se produce. Por lo general, los riesgos de seguridad serían predecibles, basado en que no sería necesario el conocimiento existente sobre las funciones biológicas de los estudios de proteínas endógenas y animales para confirmar estos riesgos de seguridad. Sólo en ausencia de un conocimiento suficiente, y si consideraciones teóricas son indicativas de un riesgo de seguridad, estudios de inmunización en animales con la proteína terapéutica o el animal homólogo pueden ser consideradas a fin de obtener información sobre las consecuencias potenciales de una respuesta inmune no deseada. Cualquier experiencia relevante sobre las consecuencias de la inducción de una respuesta inmune a la proteína endógena o su ausencia/disfunción en modelos animales debe discutirse en el resumen integrado de inmunogenicidad.

Tanto las respuestas inmunes humerales y celulares deben ser consideradas. Las respuestas celulares pueden ser relevantes cuando se sospecha que los efectos farmacodinámicos o efectos adversos son mediados por las células inmunes, por ejemplo, cuando se produce hipersensibilidad de tipo retardado o cuando se sospecha de una respuesta de células T citotóxicas. En el desarrollo de los medicamentos biológicos biosimilares, la comparación de la respuesta del anticuerpo anti-fármaco al biosimilar y el producto de referencia en un modelo animal no se recomienda como parte del ejercicio de comparabilidad del biosimilar, debido a la baja capacidad de predicción para el potencial inmunogenicidad en humanos. Sin embargo, en raras ocasiones cuando exista la necesidad de un estudio toxicológico o cuando un estudio farmacocinético se realiza todavía

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

podría haber la necesidad de medir ADAs para ayudar en la interpretación de los resultados del estudio.

2.4. Desarrollo de ensayos para detectar y medir las respuestas inmunológicas en los seres humanos

El desarrollo de una estrategia de análisis integrado relevante para el plan de tratamiento pretendido es crítico para dilucidar la relevancia clínica de datos de inmunogenicidad. Los ensayos y las estrategias de ensayo para la evaluación de la respuesta inmune deben ser seleccionados y/o desarrollados antes del desarrollo clínico. Mientras que la mayoría del esfuerzo se centra generalmente en la detección y caracterización de anticuerpos, ya que a menudo se relaciona con la seguridad y eficacia clínica, las respuestas mediadas por células también son importantes y su evaluación debe ser considerada por los solicitantes, cuando aplique.

Aunque los ensayos se perfeccionarán durante el desarrollo de productos y la idoneidad de ensayo reevaluado según su uso, se espera que el solicitante proporcione toda la información necesaria y los datos completos de validación del ensayo para evaluación como parte de la solicitud de registro sanitario.

2.4.1. Estrategia y ensayos de anticuerpos

Se espera que exista una estrategia apropiada que incluya el uso de métodos sensibles y válidos para la evaluación de la inmunogenicidad. Por lo general, un enfoque de múltiples niveles se debe emplear. Esto incluye un ensayo de screening o cribado para la identificación de anticuerpos muestras/pacientes positivos, un procedimiento para la confirmación de la presencia de anticuerpos y la determinación de la especificidad del anticuerpo seguido por ensayos funcionales para la evaluación de la capacidad de neutralización de anticuerpos. Cualquier desviación de este concepto debe estar debidamente justificada y discutida con las autoridades reguladoras antes de la presentación de la solicitud de registro sanitario. Todos los ensayos claves (screening, confirmatorios, neutralización de anticuerpos NAb) deben ser validados para el uso previsto. En algunos casos, las muestras de prueba para la reactividad cruzada con otros productos basados en la misma proteína y la proteína endógena pueden ser necesarios, si tiene implicaciones para la eficacia clínica y la seguridad.

Las tecnologías para la medición de anticuerpos están evolucionando rápidamente que necesita ser considerado durante la selección del ensayo. Además, se requieren ensayos para medir el nivel del producto y para la evaluación de la relevancia clínica a los productos, por ejemplo, los ensayos para biomarcadores relevantes o mediciones farmacocinéticas para evaluar el impacto clínico de anticuerpos inducidos si estos son detectados (**ver sección 2.6**). Si los anticuerpos son inducidos en pacientes, la evaluación de la cinética de desarrollo de anticuerpos y la duración, así como la magnitud de la respuesta de anticuerpos debe ser dirigida, ya que puede correlacionarse con consecuencias clínicas. En tales casos, las muestras de suero o plasma deben caracterizarse en términos de nivel de anticuerpos (título), la capacidad de neutralización y posiblemente otros criterios determinados sobre una base caso por caso en función del producto biológico, el tipo de los pacientes tratados, el objetivo del estudio, los síntomas clínicos y posiblemente otros factores. La caracterización adicional si es necesario debe incluir

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

por ejemplo, clase de anticuerpo y la subclase (isotipo), afinidad y especificidad y ensayos utilizados para estos deben estar calificados para el fin previsto.

a. Ensayos de cribado o screening

Los ensayos de cribado son el primer paso en la evaluación de la inmunogenicidad. Deben ser sensibles y capaces de detectar todos los anticuerpos clínicamente relevantes (incluyendo las subclases IgM e IgG) inducidos contra el producto en todos los pacientes con anticuerpos positivos. Una baja tasa de falso positivo es aceptable (preferentemente 5%), pero resultados de falsos negativos son inaceptables.

El screening se realiza utilizando inmunoensayos que se basan en una variedad de formatos y sistemas de detección (**ver sección 2.6**). Todos los procedimientos de screening se basan en la detección de la interacción antígeno-anticuerpo (unión), pero pueden diferir en sus principios científicos/técnicos subyacentes. Estos ensayos están configurados para tener suficiente rendimiento y automatización adecuada, cada ensayo tiene sus propios atributos y limitaciones inherentes que deben tenerse en cuenta (**ver sección 2.7; sección 2.6**). Los ensayos necesitan ser desarrollados, optimizados, seleccionados y validados de acuerdo con su uso previsto. Cuando se selecciona el ensayo de screening, todas las cuestiones metodológicas y factores de interferencia que puedan afectar a la prueba deben tenerse en cuenta. Por ejemplo, los ensayos de ELISA de unión directa, con antígeno directamente inmovilizado en las superficies de los pocillos de placa, es a menudo el enfoque de ensayo más simple, pero puede estar asociado con una incidencia muy alta de falsos positivos. También pueden estar asociados con una alta incidencia de falsos negativos para las muestras que contienen anticuerpos de baja afinidad. A menudo es necesario considerar otros ensayos adecuados, por ejemplo, ensayos de puente, ensayos basados en electroquimioluminiscencia o métodos de resonancia de plasmón superficial mientras se reconozca sus limitaciones. El enmascaramiento de epítopos puede dar resultados falsos negativos en algunos ensayos de cribado y una estrategia para evitar esto puede ser necesario, por ejemplo mediante el etiquetado de reactivos de detección que utilizan procedimientos que evitan el enmascaramiento de epítipo(s) especiales.

Los reactivos de ensayo (por ejemplo, reactivos de bloqueo) deben ser considerados cuidadosamente. Reactivos de bloqueo como BSA y la leche contienen glicanos no humanos que a veces se encuentran en las proteínas producidas en células de animales no humanas. Por lo tanto, los anticuerpos contra estos glicanos pueden pasarse por alto.

Las muestras (normalmente de suero o plasma) contienen sustancias que pueden interferir con los ensayos, por ejemplo: efectos de matriz que producen resultados falsos positivos o negativos y/o evaluación incorrecta del contenido de anticuerpos. Los ejemplos incluyen componentes del complemento o receptores del complemento, proteína de unión a manosa, receptores de Fc, moléculas diana solubles, y factores reumatoides. La influencia de este tipo de componentes de la matriz en los resultados del ensayo debe ser considerada y evaluada como parte de la validación del método. Para mitigar la influencia potencial deben implementarse medidas correctivas y el enfoque elegido debe justificarse, especialmente si hay limitaciones de los métodos respectivos. Además, la proteína terapéutica residual (fármaco) presente en la sangre de los pacientes puede formar complejos con anticuerpos

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

inducidos y, por lo tanto, reducir la cantidad de anticuerpos detectables mediante ensayos. Esta interferencia puede afectar los ensayos de manera diferente, dependiendo del formato o tipo de ensayo y las características del anticuerpo y debe abordarse durante la validación del método. Si se produce dicha interferencia de drogas, puede evitarse / resolverse mediante el uso de una serie de enfoques, por ejemplo: disociando los inmunocomplejos con ácido, eliminando el exceso de fármaco por adsorción en fase sólida, utilizando largos tiempos de incubación y/o utilizando un ensayo que permite una dilución de muestra suficiente para evitar este problema. A veces, puede ser posible eliminar el fármaco o el objetivo de la muestra usando lectinas o anticuerpos xenogénicos. Tales enfoques deben ser validados por su efectividad y demostrarse que no tienen un impacto negativo en los resultados del análisis. En algunos casos, la interferencia de la proteína terapéutica residual puede superarse separando adecuadamente el tiempo entre la administración del producto y el muestreo para la evaluación de anticuerpos, es decir, permitiendo que el producto se elimine de la circulación antes del muestreo. Este último enfoque no debe comprometer la detección de anticuerpos o el tratamiento del paciente. En cualquier caso, el solicitante debe demostrar que la tolerancia del ensayo a la terapéutica excede los niveles de la proteína terapéutica en las muestras para la prueba de ADA. Debido a limitaciones técnicas, no siempre es posible desarrollar ensayos completamente tolerantes. Si esto ocurre, debe emplearse el mejor ensayo posible y el enfoque adoptado debe estar debidamente justificado.

b. Los ensayos para confirmar la presencia de anticuerpos

Se espera que los ensayos de confirmación ratifiquen los resultados positivos y la eliminación de resultados positivos falsos acorde al screening inicial. Para la selección del ensayo debe tenerse en cuenta las limitaciones y las características del ensayo de cribado. Un enfoque común para la confirmación de anticuerpos es la adición de un exceso de antígeno a la muestra seguido de una comparación de muestras enriquecidas y no enriquecido en el ensayo de selección. Esto debe resultar en la inhibición de la unión inicial de los anticuerpos al antígeno y en una reducción de la señal positiva para verdaderos positivos en la muestra enriquecida.

Los anticuerpos presentes en las muestras positivas confirmadas necesitan ser examinados para determinar el título y la especificidad para la proteína terapéutica. Se ha demostrado que los anticuerpos pueden ser inducidos también contra otras sustancias, como los componentes relacionados con el producto y relacionados con el proceso (por ejemplo, proteínas de la célula huésped). En tales casos, se espera que ensayos de anticuerpos contra estas impurezas sean también desarrolladas y validadas para las pruebas de las muestras de pacientes aunque los niveles de las impurezas deben mantenerse al mínimo para evitar tales respuestas inmunes.

c. Los ensayos de neutralización

La capacidad de neutralización de anticuerpos presentes en las muestras positivas necesita ser analizado como parte de la evaluación de la inmunogenicidad ya que esto a menudo se correlaciona con respuestas clínicas disminuidas para producto biológico. La desviación de este concepto necesita una justificación sólida. En tales casos, es recomendable buscar asesoramiento regulatorio. Los anticuerpos neutralizantes (NAbs) inhiben la actividad

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

biológica de una proteína terapéutica mediante la unión a epítipo(s) dentro o cerca del sitio activo(s) de la molécula o causando cambios conformacionales. Debido a que los anticuerpos neutralizantes pueden desencadenar efectos clínicos, se esperan métodos *in vitro* específicos y sensibles para la detección. Dos tipos de ensayos NAb se utilizan principalmente - ensayos basados en células y ensayos no basados en células.

Se recomienda la selección de un ensayo que responda bien al producto biológico y sea tolerante a la proteína terapéutica residual. Los bioensayos utilizados para las pruebas de potencia a menudo se pueden adaptar para evaluar anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, pueden requerir de refinación con el fin de lograr un rendimiento óptimo para medir la capacidad de neutralización de anticuerpos.

La comprensión del modo de acción, el objetivo y las vías efectoras de la terapéutica son críticas para la identificación de un formato de ensayo NAb adecuado. Adicionalmente, el riesgo de desarrollar anticuerpos neutralizantes y el impacto en las secuelas clínicas también deben tenerse en cuenta.

Mientras que los ensayos basados en células a menudo se emplean para terapias agonísticas, los ensayos de unión a ligandos competitivos (CLB) no basados en células a menudo se consideran para moléculas antagonistas con dianas humorales. Para productos que ejercen su actividad solo a través de la unión directa a otras moléculas (por ejemplo, algunos MAb), CLB u otras alternativas pueden ser adecuadas. Sin embargo, cuando estos se utilizan se debe demostrar que reflejen capacidad / potencial neutralizante de una manera apropiada. Para los antagonistas tales como anticuerpos terapéuticos monoclonales con funciones efectoras para la eficacia clínica, ensayos basados en células se recomiendan como el mecanismo de acción no se puede reflejar adecuadamente en un ensayo de CLB no basados en células.

Para la evaluación de NAb, a menudo se elige una concentración única de la sustancia biológica para el ensayo y se evalúa la dilución de cada muestra para determinar su efecto inhibitorio sobre la respuesta del ensayo. Esto permite determinar una respuesta de dosis neutralizante y calcular la capacidad neutralizante ("título") para cada muestra. En cuanto a la detección, se debe mostrar durante la validación del método que la neutralización está realmente relacionada con los anticuerpos y no debido a otros componentes inhibitorios en la matriz de la muestra. Se pueden considerar enfoques para mostrar especificidad, como el agotamiento de anticuerpos o el uso de estímulos alternativos (si el ensayo responde a múltiples estímulos). Cabe señalar que la actividad neutralizante no se correlaciona necesariamente con la unión del anticuerpo, es decir, las muestras que contienen cantidades significativas o altas de anticuerpos de unión pueden no neutralizar la actividad biológica, mientras que las muestras que contienen cantidades más bajas de anticuerpos de unión pueden neutralizar cantidades variables de la droga (dependiente de la muestra). Esto puede depender del producto, pero debe determinarse a través de estudios.

d. Estrategia de evaluación de la inmunogenicidad - diseño y la interpretación

Estudios de inmunogenicidad deben ser diseñados con cuidado y de forma prospectiva para asegurar que todos los procedimientos esenciales están en su lugar antes del comienzo de la evaluación clínica. Esto incluye la selección, la evaluación y caracterización de los ensayos, la identificación de puntos de muestreo apropiados incluyendo muestras de referencia para la

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO

GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

determinación de anticuerpos pre-existentes, los volúmenes de muestra adecuados y muestra de procesamiento / almacenamiento y selección de métodos estadísticos para el análisis de datos. Esto se aplica a los ensayos utilizados para medir y caracterizar anticuerpos y métodos empleados para la evaluación de las respuestas clínicas a los anticuerpos si se inducen. Gran parte de esto debe ser establecido sobre una base caso por caso, teniendo en cuenta los productos, los pacientes y los parámetros clínicos esperados.

2.4.2. Controles de ensayo y reactivos

La identificación y/o desarrollo de controles positivos y negativos apropiados es crucial ya que son esenciales para la validación del ensayo. Ellos están íntimamente asociados con la interpretación del ensayo y para distinguir las muestras positivas de anticuerpos de las muestras negativas de anticuerpos. Para todos los controles, los datos de caracterización que muestran sus propiedades y funcionalidad para el uso previsto deben proporcionarse como parte de la solicitud de registro sanitario. Esto es especialmente importante para los controles positivos, que en muchos casos son anticuerpos animales y se unen a diferentes epítomos, por ejemplo: en caso de biosimilares pueden diferir.

Idealmente, un control positivo de anticuerpo debe ser una preparación humana con un contenido de anticuerpos significativo que está disponible en cantidad suficiente para su uso continuado. Sin embargo, suficiente suero humano a menudo no está disponible para servir como una preparación de control positivo. En tales casos, pueden ser utilizados anticuerpos recombinantes humanos contra la proteína, si están disponibles, o suero animal generado contra el producto como una referencia. Esto también es aplicable a los productos biosimilares. Sin embargo, el uso de anticuerpos animales es más limitado que los anticuerpos humanos, por ejemplo en procedimientos inmunoquímicos, debido a las diferencias de especies. Adicionalmente, si el ensayo implica el uso de un reactivo de inmunoglobulina anti-humana, el ensayo no responderá de forma confiable a los anticuerpos no humanos y la respuesta en todos los ensayos puede diferir en las características de las respuestas a los anticuerpos humanos en muestras humanas.

El uso del control positivo para estimar los niveles de anticuerpos para los datos obtenidos para muestras con ensayos de unión en unidades de masa es problemático ya que la inmunoglobulina presente en los estándares y las muestras es heterogénea en estructura, especificidad y avidéz. Por lo tanto, se deben explorar otras opciones, por ejemplo: para reportar datos de inmunoensayo como un título basado en un procedimiento estándar para calcular este valor. Sin embargo, la sensibilidad del ensayo y los datos para experimentos de adición de recuperación deben ser presentados de forma cuantitativa. Los anticuerpos de control positivo para ensayos de neutralización deben tener actividad neutralizante significativa, pero puede ser también útil incluir una preparación del anticuerpo no neutralizante en ensayos, por lo menos en estudios de validación, si está disponible. La capacidad de neutralización de los anticuerpos en cada muestra es difícil de definir en unidades de masa y, normalmente, se determina un umbral para la actividad neutralizante del ensayo. Tales umbrales (cerca del límite de detección mínimo) deben ser debidamente justificados y validados para asegurar que todas las muestras NAb positivas se detectan. El uso de la muestra de dilución o título requerido para neutralizar la actividad biológica del producto también es una opción.

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

Para ambos ensayos los de cribado y los NAb, un panel de materiales de referencia que contienen diferentes cantidades de anticuerpos (baja, media y controles de alta calidad) son útiles para la caracterización / validación de ensayos ya que actúan como indicadores de rendimiento del ensayo. Esto debe incluir uno o más preparados con bajo contenido del anticuerpo (cerca del límite de detección mínimo) y que contiene anticuerpos de baja avidéz, si es posible.

Se necesitan controles negativos para establecer las líneas base del ensayo y caracterizar / validar los ensayos. La línea base del ensayo para individuos normales (sanos) se determina claramente con bastante facilidad midiendo la respuesta del ensayo usando muestras derivadas de un número apropiado de tales individuos y analizándolas para proporcionar un valor de fondo estadísticamente válido. Sin embargo, esto puede no ser representativo de la respuesta inicial de las muestras derivadas de la población de pacientes, que por lo tanto necesitaría establecerse por separado, utilizando muestras de pretratamiento de pacientes o pacientes con enfermedad sin tratamiento previo. En general, los ensayos deben validarse utilizando la misma matriz que las muestras a analizar.

Las muestras de algunas personas/pacientes pueden contener anticuerpos preexistentes (pretratamiento) o posiblemente otras sustancias que producen respuestas positivas significativas en los ensayos, por lo que es necesario evaluar a los pacientes para garantizar que los datos posteriores al tratamiento puedan interpretarse correctamente en términos de tratamiento de anticuerpos emergentes.

Los reactivos utilizados en los ensayos deben calificarse y establecerse criterios de aceptación, al menos para los más importantes. Deben almacenarse adecuadamente (liofilizados o congelados a una temperatura adecuada) y caracterizarse.

2.4.3. La validación del ensayo e interpretación de los resultados

Los ensayos usados para el análisis de ADAs y NABs de las muestras de los pacientes necesitan ser validadas para el fin previsto y los datos de validación deben ser proporcionados como parte de la solicitud de registro sanitario. Para la validación, la Guía sobre la validación de métodos bioanalíticos (EMA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr.*) debe ser revisada. Si bien el desarrollo y la validación de los ensayos es un proceso continuo, todos los datos de inmunogenicidad clínica a considerar para una solicitud de registro sanitario deben haberse obtenido utilizando ensayos validados. Se deben realizar estudios de validación para establecer que los ensayos muestran respuestas lineales apropiadas y dependientes de la concentración a analitos relevantes, así como la precisión, sensibilidad, especificidad y robustez apropiadas. La inclusión de datos que respalden la dilución mínima requerida de las muestras es importante. Se debe considerar el uso de un laboratorio central para realizar los ensayos para evitar la variabilidad entre laboratorios, que es un problema tanto para las pruebas previas a la solicitud de registro sanitario como para las posteriores a la aprobación. Los ensayos también deben validarse para mostrar que los efectos de la matriz causados por reactivos o sustancias presentes en las muestras o la interferencia de fármacos no afectan negativamente los resultados obtenidos. Esto normalmente se aborda mediante investigaciones de "recuperación" realizadas al observar los efectos de tales sustancias presentes en la matriz sobre la respuesta obtenida en su ausencia. Esto necesita ser investigado para el rango completo de diluciones de muestras, que se utilizarán en ensayos, y, al menos en algunos casos, limita las diluciones, que pueden evaluarse de manera válida.

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

Es esencial establecer criterios claros para decidir cómo las muestras se considerarán positivas o negativas, y también cómo se confirmarán los resultados positivos. El enfoque adoptado debe estar justificado por los datos. Un procedimiento común para establecer un punto de corte positivo para los inmunoensayos es establecer el fondo del ensayo utilizando muestras de controles sanos normales o individuos enfermos. Se podría utilizar un enfoque estadístico para establecer el valor de corte del ensayo, donde esté justificado. Alternativamente, se pueden usar datos reales (por ejemplo, valor doble fondo) para determinar cuál se considerará el resultado positivo más bajo. Para las muestras positivas de anticuerpos, se debe determinar un título utilizando un enfoque estándar e informando el recíproco de la dilución más alta a la que la muestra da un resultado positivo. Otra opción es informar en unidades de masa utilizando un control positivo de anticuerpos, pero esto tiene advertencias.

2.4.4. Ensayos para la inmunogenicidad comparativa

Siempre se necesitan estudios de inmunogenicidad comparativa en el desarrollo de biosimilares, pero rara vez para un cambio del proceso de fabricación de un producto biológico dado. Las pruebas de inmunogenicidad del biosimilar y el producto de referencia deben realizarse dentro del ejercicio de comparabilidad del biosimilar utilizando el mismo formato de ensayo y programa de muestreo. El ensayo debe ser capaz de detectar anticuerpos contra todos los epítomos de moléculas biosimilares y las de referencia. Si se utilizan ensayos separados para el biosimilar y el producto de referencia, este enfoque de ensayo de dos antígenos requiere una validación cuidadosa para excluir cualquier sesgo debido a diferencias en la sensibilidad y la tolerancia al fármaco. La demostración de una incidencia similar de ADA y una buena concordancia entre los ensayos proporciona una buena evidencia de una inmunogenicidad comparable.

Alternativamente, el solicitante puede usar un enfoque de ensayo único en el que la molécula biosimilar se usa como antígeno. En principio, este formato de ensayo debe ser capaz de detectar todos los anticuerpos del producto biosimilar, pero no necesariamente todos los anticuerpos del producto de referencia. El hallazgo de que el biosimilar es más inmunogénico debe desencadenar una investigación de la causa raíz de la diferencia, incluidos los problemas metodológicos.

Independientemente del enfoque utilizado para la evaluación de inmunogenicidad de un producto biosimilar frente al producto de referencia, se recomienda que los ensayos se validen de forma cruzada utilizando ambos antígenos, controles positivos de anticuerpos y preferiblemente muestras clínicas para demostrar un rendimiento similar.

Las mismas consideraciones sobre la metodología del ensayo se aplican cuando se requieren estudios comparativos de inmunogenicidad para la comparación de dos versiones de una proteína terapéutica en el contexto de un cambio de fabricación de un producto dado.

2.4.5. Evaluación de la inmunogenicidad de proteínas conjugadas y proteínas de fusión

Se espera la obtención de una respuesta de anticuerpos con múltiples especificidades y afinidad variable hacia diferentes epítomos que resultan en diversos grados de impacto clínico para las nuevas moléculas biotecnológicas, tales como proteínas de fusión modificadas y proteínas conjugadas químicamente. La evaluación de esta respuesta, en particular, la caracterización de

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

la especificidad de los anticuerpos inducidos es desafiante y puede requerir múltiples ensayos para medir las respuestas inmunes a diversos restos. Alternativamente, se puede utilizar una estrategia basada en el principio de inhibición competitiva del ensayo confirmatorio para diseccionar las especificidades de los anticuerpos para restos individuales. Por ejemplo, para una proteína pegilada, la estrategia de evaluación comprendería un ensayo de detección que utiliza la prueba terapéutica pegilada y la prueba de cualquier muestra positiva que use la fracción terapéutica completa, la proteína no pegilada y el resto de polietilenglicol (PEG) en un ensayo confirmatorio.

2.4.6. Caracterización de anticuerpos frente a una proteína terapéutica

Normalmente, se requiere la incidencia y el título, la persistencia y la capacidad neutralizante de los ADA. En ciertas circunstancias, puede ser factible caracterizar aún más la respuesta de ADA, por ejemplo, en caso de reacciones anafilactoides y el seguimiento de la madurez de la respuesta inmune emergente. En estos casos, la determinación del isotipo y las subclases de IgG o incluso la reactividad de las células T pueden ser útiles. La reactividad cruzada de los ADAs con proteínas endógenas relevantes debe investigarse si se sospecha una autoinmunidad emergente.

2.5. Inmunogenicidad y Desarrollo Clínico

Las pruebas de inmunogenicidad deben incluirse en todos los ensayos clínicos farmacocinéticos, farmacodinámicos, de seguridad y eficacia fundamentales de un medicamento biológico dirigido a poblaciones de pacientes que no han sido expuestos al producto previamente. El objetivo de los estudios de inmunogenicidad es detectar y caracterizar una respuesta inmune al producto e investigar las correlaciones entre los ADAs, por un lado, y la farmacocinética y la dinámica, así como la eficacia y la seguridad, por otro lado. Por lo tanto, la evaluación de la inmunogenicidad debe incluirse en la planificación de los ensayos clínicos fundamentales, incluida la sincronización del muestreo de ADA y biomarcadores relevantes, si están disponibles, así como la evaluación de la eficacia y la seguridad (**ver sección 2.7**). Los estudios clínicos especiales de inmunogenicidad son generalmente no necesarios.

2.5.1. Justificación para el horario de muestreo y la cinética de la respuesta de anticuerpos

La inmunogenicidad debe probarse sistemáticamente en pacientes mediante muestreo repetitivo programado de rutina, así como de manera sintomática con muestras adicionales, cuando se sospeche la aparición de una respuesta inmune no deseada. Varios factores relacionados con el producto influirán en el desarrollo de una respuesta inmune contra una proteína terapéutica (**ver sección 2.1**). Por lo tanto, el programa de muestreo para la detección de una respuesta inmune debe adaptarse y aplicarse individualmente para cada producto, también teniendo en cuenta su farmacocinética (por ejemplo: eliminación de la vida media) y la tolerancia al fármaco de los ensayos de ADA. Las muestras de referencia siempre deben recogerse.

Los solicitantes deben usar una terminología generalmente aceptada al describir la cinética de la respuesta ADA y los posibles efectos adversos mediados por el sistema inmunitario, teniendo en cuenta la experiencia de productos comparables y publicaciones científicas y reguladoras relevantes (**ver sección 2.7**). Durante el tratamiento, se deben tomar muestras antes de la

administración del producto, ya que los niveles residuales de la sustancia activa en la muestra pueden interferir con el ensayo (**ver sección 2.4**).

La frecuencia del muestreo y el momento y el alcance de los análisis también dependerán de la evaluación del riesgo de un medicamento en particular (como se describe en el resumen del programa de inmunogenicidad (**ver sección 2.7**)). Los horarios de muestreo deben diseñarse para distinguir a los pacientes que son transitoriamente positivos de los pacientes que desarrollan una respuesta de anticuerpos persistente. El período de muestreo posterior al tratamiento debe ser lo suficientemente largo como para permitir conclusiones sobre la persistencia de la respuesta inmune desencadenada por la proteína terapéutica y descubrir una reacción inmune que fue suprimida por la misma proteína terapéutica. El tiempo para la(s) muestra(s) posterior al tratamiento está determinado por la vida media de la proteína y la tolerancia al fármaco del ensayo ADA.

Es necesario un muestreo más frecuente en la fase temprana del tratamiento, donde los pacientes tienen mayor riesgo de desarrollar un ADA. El seguimiento a largo plazo de la inmunogenicidad con muestras menos frecuentes proporciona información adicional sobre la evolución y las consecuencias de la inmunogenicidad. En caso de tratamiento crónico continuo, los datos de inmunogenicidad para un año de tratamiento normalmente deberían estar disponibles con autorización previa, pero es posible un seguimiento más corto con una justificación adecuada.

La inmunogenicidad asociada con el tratamiento intermitente debe considerarse sobre la base de una evaluación de riesgos, por ejemplo: experiencia de otros productos similares, riesgos asociados con potencial inmunogenicidad, efecto de refuerzo y persistencia o aparición de anticuerpos después de la exposición.

Si el producto tiene diferentes vías de administración, los solicitantes deben justificar su enfoque con respecto a la evaluación de inmunogenicidad para cada ruta en el momento de la solicitud de registro sanitario (**ver sección 2.7**).

El riesgo de efectos adversos mediados por el sistema inmunitario debe describirse en los capítulos relevantes del Resumen de características del producto de manera concisa y teniendo en cuenta el hecho de que una comparación de resultados de diferentes fuentes o por diferentes ensayos no es confiable. La viabilidad y las posibilidades para el monitoreo de rutina de la inmunogenicidad, incluida la utilidad de las mediciones de concentración de drogas, también deben incluirse en la ficha técnica, si corresponde.

2.5.2. Consecuencias sobre la farmacocinética del producto

Los ADAs pueden influir en la farmacocinética, especialmente en la fase de eliminación. Los anticuerpos no neutralizantes "unidos", a veces también pueden modular en lugar de solo disminuir, la eficacia de un producto, por ejemplo: prolongando la vida media. Un cambio en la farmacocinética puede ser una indicación temprana de la formación de anticuerpos. Por lo tanto, se recomienda a los solicitantes que incorporen muestras concomitantes tanto para la farmacocinética como para la inmunogenicidad en todos los estudios de dosis repetidas.

2.5.3. Impacto de la inmunogenicidad de seguridad y eficacia

La presencia de ADAs puede o no tener consecuencias clínicas (**ver sección 2.2**). Es esencial que el desarrollo clínico se base en un análisis de riesgos potenciales y las posibilidades para

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

detectarlos y mitigarlos. La planificación del análisis de los efectos adversos mediados por el sistema inmunitario debe basarse en el análisis de riesgos, incluida la experiencia previa del producto (clase), la presencia de estructuras potencialmente inmunogénicas en la población de proteínas y pacientes (**ver sección 2.7**).

Los pacientes con ADA preexistentes pueden exhibir un perfil de eficacia y seguridad diferente y deben analizarse como un subgrupo cuando sea posible. El plan de análisis debe definir complejos de síntomas que puedan estar asociados con hipersensibilidad aguda o retardada y autoinmunidad, así como con la pérdida de eficacia (**ver sección 2.7**). Los posibles efectos adversos inmunológicos deben abordarse en el plan de gestión de riesgos (**ver sección 2.6**).

Cuando se han demostrado los ADA, puede ser útil una caracterización adicional más allá del título y la capacidad neutralizante de los anticuerpos, por ejemplo: clase de inmunoglobulina en caso de hipersensibilidad aguda. También es posible realizar una tipificación adicional de ADA clínicamente importantes o determinar un nivel de "umbral" de ADA más allá del cual haya un impacto significativo en la eficacia y/o seguridad

2.5.4. Aspectos metodológicos para evaluar la inmunogenicidad relativa como parte de un ejercicio comparabilidad

Se requieren estudios comparativos de inmunogenicidad comparativa en el desarrollo de productos biosimilares y también puede ser necesario después de los cambios en el proceso de fabricación de un producto dado para comparar las versiones anteriores y posteriores al cambio del producto (**ver sección 2.4.4**). Cuando se realizan cambios en el proceso de fabricación de un producto individual, el ejercicio de comparabilidad es un proceso gradual (ver guía ICH Q5E). Si las pruebas fisicoquímicas y biológicas iniciales indican una diferencia entre las versiones anteriores y posteriores al cambio del producto, se deben considerar las posibles consecuencias para la seguridad y la eficacia, incluida la inmunogenicidad alterada. El tipo de estudios de inmunogenicidad, si es necesario, debe justificarse en función de la(s) diferencia(s) observada(s), vía de administración, curva dosis-respuesta y ventana terapéutica, el impacto clínico potencial y el conocimiento adquirido con este producto y clase de producto (Ver ICH Q5E). La evaluación de la inmunogenicidad como parte de un ensayo clínico para un ejercicio de comparabilidad en el contexto de un cambio de fabricación debe incluir preferiblemente un estudio directo del producto previo y posterior al cambio. En ambos escenarios, el desarrollo biosimilar y un cambio en el proceso de fabricación, la población objetivo del estudio de eficacia, seguridad e inmunogenicidad debe ser sensible a las diferencias en la inmunogenicidad y sus consecuencias y ser representativa de la población o poblaciones para las cuales el producto es indicado. En situaciones de alto riesgo, las muestras deben analizarse de forma continua.

La investigación de la inmunogenicidad debe integrarse con las pruebas de farmacocinética, seguridad y eficacia. Las diferencias en la inmunogenicidad cuestionarán la comparabilidad de un biosimilar y su producto de referencia, así como de las versiones nuevas y antiguas de un producto aprobado, y es requerido un análisis exhaustivo de la causa raíz. Pueden ser aceptables diferencias menores en la inmunogenicidad sin correlación a nivel de calidad y sin impacto negativo en la eficacia clínica (reducción o pérdida de eficacia) y seguridad. La evaluación del impacto clínico de una diferencia observada en la inmunogenicidad puede ser un desafío debido al tamaño limitado de la muestra y la duración del seguimiento. Si el impacto clínico de la diferencia observada es incierto, por ejemplo: Debido a la rareza del posible efecto adverso grave o la lenta evolución de una respuesta inmune, puede ser necesaria una estrategia

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

específica de gestión de riesgos y una actualización del plan de gestión de riesgos (**ver sección 2.6**).

2.5.5. Gestión de la inmunogenicidad

Una reacción inmune perjudicial para una proteína terapéutica no siempre se puede evitar a pesar de los esfuerzos realizados por los solicitantes para seleccionar compuestos que tienen un potencial inmunogénico bajo (**ver sección 2.3**). En tales casos, el solicitante debe, si es posible, explorar las posibilidades de reducir el impacto adverso de la inmunogenicidad observada durante el desarrollo clínico. En algunos casos, co-medicación o antiinflamatoria inmunosupresora puede prevenir de manera significativa o reducir los efectos adversos inmunológicos. En algunos casos, como con factores de coagulación, puede ser posible volver a establecer la tolerancia inmunológica por regímenes de tolerización, por ejemplo mediante la administración de dosis mayores de la proteína terapéutica. Tales regímenes terapéuticos deben ser documentados por estudios clínicos.

2.6. Farmacovigilancia

Como parte de la solicitud de registro sanitario, el solicitante debe presentar un plan de gestión de riesgos (RMP), que incluya especificaciones de seguridad del producto, plan de farmacovigilancia y plan de minimización de riesgos, de acuerdo a la "Normativa Técnica Sanitaria Sustitutiva para el Funcionamiento del Sistema Nacional de Farmacovigilancia (SNFV)", o el instrumento que la sustituya, y de conformidad con la Guía ICH E2E (Farmacovigilancia). Se debe considerar la inmunogenicidad para la sección de especificación de seguridad del plan de gestión de riesgos de proteínas terapéuticas y, si se incluye, se debe evaluar la necesidad de actividades de farmacovigilancia adicionales. Para los cambios en el proceso de fabricación, las implicaciones de este cambio en el potencial inmunogénico podrían tener que abordarse en el plan de gestión de riesgos. Una vez más, debe enfatizarse que la evaluación de la inmunogenicidad es un enfoque multidisciplinario, en el mejor de los casos, brindando aportes de expertos clínicos, no clínicos y de calidad.

La extensión de los datos sobre inmunogenicidad que pueden y deben obtenerse durante el programa de desarrollo clínico de una proteína terapéutica antes de la aprobación depende de la tasa de eventos y el riesgo asociado impulsado tanto por el potencial inmunogénico de la proteína en la(s) población(es) de pacientes a ser tratados y la rareza de la enfermedad. Por lo tanto, la disponibilidad de datos sobre inmunogenicidad en el momento de la autorización de comercialización (registro sanitario) podría ser limitada. Además, el conocimiento obtenido para la clase de producto y/o el producto de referencia (en el caso del desarrollo biosimilar) debe evaluarse completamente en las secciones relevantes del resumen de seguridad clínica con base en la evidencia disponible con conclusiones apropiadas extraídas sobre si un producto puede presentar un riesgo tan importante (potencial). Si este es el caso, la inmunogenicidad debe incluirse en el plan de gestión de riesgos como un riesgo potencial o identificado o como un área de información faltante. La inmunogenicidad siempre debe estar relacionada con la consecuencia clínica. Si no surge una preocupación o incertidumbre particular de la evaluación, no se requiere la inclusión por defecto de la inmunogenicidad como un riesgo potencial o como un área de información faltante.

Dentro del plan de farmacovigilancia del plan de gestión de riesgos, se debe analizar y evaluar la necesidad de actividades de farmacovigilancia adicionales. En caso de que se consideren

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

necesarios estudios adicionales sobre inmunogenicidad, el diseño más adecuado debe evaluarse en función del objetivo del estudio. En este momento, los ADA y los niveles mínimos no se miden habitualmente en la práctica clínica. Por lo tanto, para obtener datos adicionales sobre la incidencia y títulos de ADA y niveles mínimos, podrían ser necesarios ensayos clínicos adicionales o extensiones de ensayos clínicos en curso en la fase posterior a la autorización. Tal prueba también podría ser necesaria durante el desarrollo del biosimilar en caso de que se recopilen datos de inmunogenicidad adicionales de manera comparativa en la fase posterior a la autorización.

El seguimiento de pacientes tratados con una proteína terapéutica durante la práctica clínica habitual, por ejemplo: mediante registros de pacientes, y se ha demostrado que la recopilación de sospechas de reacciones adversas notificadas espontáneamente es una herramienta valiosa para recopilar datos sobre la seguridad de estos productos. Estas herramientas de farmacovigilancia también se pueden usar para la identificación de eventos adversos relacionados con la inmunogenicidad, por ejemplo: reacciones relacionadas con la perfusión y aplasia pura de glóbulos rojos con eritropoyetinas. En base a los datos de estas fuentes, es importante concluir sobre posibles respuestas inmunes no deseadas basadas en señales sospechosas de seguridad y/o (pérdida de) eficacia, incluidos los cambios en los biomarcadores relevantes, que deben discutirse en el plan de gestión de riesgos.

Si se incluye la inmunogenicidad en la sección de especificaciones de seguridad del plan de gestión de riesgos, se debe discutir la necesidad de actividades adicionales de minimización de riesgos y, si se considera necesario, se deben describir estas actividades. Las actividades de minimización de riesgos de rutina relacionadas con la inmunogenicidad podrían, entre otras, consistir en una guía en el resumen de las características del producto sobre cómo medir los ADA y los niveles mínimos y cómo tratar los ADA de desarrollo y los eventos adversos relacionados.

La identificación del producto y el número de lote sospechoso de causar una reacción adversa, la trazabilidad, es importante para las proteínas terapéuticas. Esto es especialmente importante para los eventos adversos relacionados con la inmunogenicidad, ya sea que se detecten mediante farmacovigilancia de rutina y/o actividades de farmacovigilancia adicionales. Deben tomarse las medidas apropiadas para mejorar la trazabilidad, en particular la recopilación de la marca y el número de lote.

2.7. Resumen del programa de inmunogenicidad

Tanto la planificación y la evaluación de los estudios de inmunogenicidad de un producto biológico son ejercicios multidisciplinares. Los datos que son relevantes para la evaluación de la inmunogenicidad se dispersan a numerosos lugares de la solicitud de autorización de comercialización (registro sanitario). Por lo tanto, se recomienda que el solicitante incluya un resumen integral de la inmunogenicidad en la solicitud, incluyendo una evaluación de riesgo para apoyar el programa seleccionado de inmunogenicidad. El resumen debe ser conciso y contener enlaces a los capítulos correspondientes de la solicitud. El resumen con la evaluación de riesgos puede evolucionar a través del ciclo de vida del producto y puede ser utilizado para soportar aplicaciones en diferentes etapas de desarrollo del producto.

La evaluación del riesgo puede sugerir un bajo riesgo de efectos adversos inmunomediados. Sin embargo, se espera que la inmunogenicidad se estudie con ensayos validados según el esquema en el **ver sección 2.8.**

ANEXO 1
GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

La evaluación de riesgos puede tener un impacto en la caracterización adicional de la respuesta inmune (por ejemplo, mapeo de isótopos y epítomos), la frecuencia de muestreo, el momento del análisis y la selección de la población objetivo. El resumen debe incluir los siguientes temas cuando sean aplicables:

Análisis de los factores de riesgo

1. La experiencia previa del producto/la clase de producto
 - a. ¿El producto tiene una contraparte endógena
 - b. Los modelos animales proporcionan datos útiles de las consecuencias potenciales de inmunogenicidad. (Por ejemplo, eliminación de una proteína endógena)
 - c. Existen sitios antigénicos conocidos de la molécula
 - d. Los intentos para reducir la inmunogenicidad del producto antes y durante los ensayos clínicos
2. Aspectos físico-químicos y estructurales
 - a. Hay estructuras potencialmente inmunogénicas nuevas, por ejemplo: secuencias que son ajenas al humano
 - b. Construcción de expresión y el perfil postraducciona, por ejemplo: patrones de glucosilación / glucanos no humanos
 - c. Estabilidad e impurezas (por ejemplo, presencia de agregados (como partículas visibles o sub-visibles)
 - d. Formulación y envasado, por ejemplo: impurezas potenciales y lixiviables
3. La ruta y/o el modo de administración generan inquietudes o preocupación
4. El paciente y los factores relacionados con la enfermedad
 - a. Estado de la tolerancia inmunológica
 - i. Es propenso a reacciones autoinmunes
 - ii. Falta de tolerancia inmunológica, por ejemplo: defectos en los genes que codifican proteínas endógenas
 - iii. Terapia concomitante inmunomodulativa
 - b. Inmunidad preexistente
 - i. Anticuerpos “naturales”
 - ii. Anticuerpos debido a terapia previa con sustancias relacionadas.

El programa inmunogenicidad basado en el riesgo

5. estrategia de ensayo
 - a. Justificación de la elección de los ensayos de:
 - i. Screening, confirmación y titulación
 - ii. Neutralizante
 - iii. Otras, por ejemplo: clase de inmunoglobulina, subclase
 - b. Especificidad y sensibilidad de los ensayos seleccionados en el contexto del producto en particular
 - i. Selección del o los control(es) positivo(s)
 - c. Determinación del límite para positividad de ADA
 - d. Fármaco y tolerancia objetiva del ensayo

ANEXO 1
. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE LAS PROTEÍNAS TERAPÉUTICAS

- e. Matriz de interferencia en diferentes poblaciones
- 6. Aproximación a la inmunogenicidad en ensayos clínicos
 - a. Toma de muestras para pruebas de inmunogenicidad
 - b. Justificación de la duración del seguimiento
 - i. En tratamiento
 - ii. Fuera del tratamiento, post-exposición
 - c. Farmacocinética
 - i. Posible ADA-interferencia en los ensayos de concentración del producto
 - ii. Niveles mínimos de fármaco en relación con la tolerancia a fármacos del ensayo ADA
 - d. Farmacodinamia, los ensayos de eficacia y seguridad
 - i. Cómo el programa tiene como objetivo revelar la incidencia, la persistencia y la clínica
 - ii. Importancia de ADAs potenciales
 - iii. Hipersensibilidad, autoinmunidad, pérdida de eficacia
 - 1. Definiciones y complejos de síntomas
 - 2. Análisis de correlaciones clínicas de ADAs
- 7. Como la evaluación del riesgo influyó en el programa de inmunogenicidad

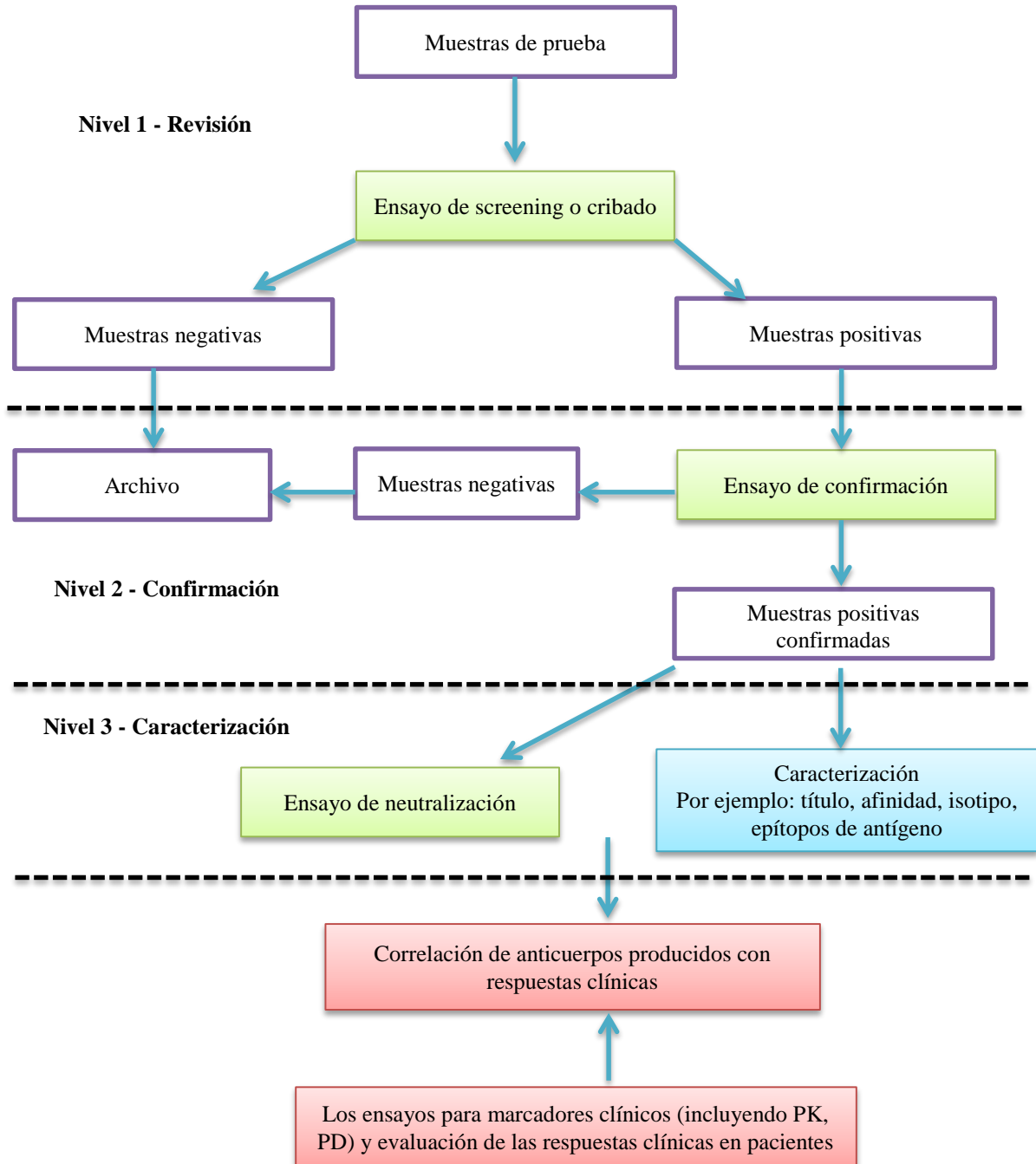
Los resultados de inmunogenicidad

- 8. Inmunogenicidad en ensayos clínicos (inmunogenicidad relativa en caso de cambios de fabricación y biosimilares)
 - a. Incidencia (Relativa) de ADAs, incluyendo ADAs neutralizantes
 - b. Títulos (relativos) y persistencia en el tiempo
 - c. La caracterización adicional si es apropiado, por ejemplo: clases de inmunoglobulina, la reactividad cruzada con proteínas terapéuticas o endógenos relacionados
 - d. Impacto (Relativo) de ADAs sobre la farmacocinética, farmacodinamia, eficacia y seguridad
 - e. Impacto de anticuerpos preexistentes en la farmacocinética, farmacodinámica, eficacia y seguridad

Conclusiones sobre el riesgo(s) de la inmunogenicidad

- 9. Impacto de la inmunogenicidad en la relación beneficio/riesgo
- 10. Herramientas para administrar el riesgo
 - a. Identificación de los grupos de riesgo
 - b. Existe un nivel o tipo de inmunogenicidad segura
 - c. Premedicación, co-medicación
 - d. Desinmunización
 - e. Detección de riesgos y herramientas de mitigación
- 11. Cómo vincular los eventos adversos a la inmunogenicidad post-comercialización (plan de gestión de riesgos)

2.8. Ejemplo de una estrategia para la evaluación de inmunogenicidad



Agencia Nacional de Regulación,
Control y Vigilancia Sanitaria



ANEXO 2: GUÍA DE USUARIO

GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS
MONOCLONALES DESTINADOS A USO CLÍNICO IN
VIVO

Versión [1.0]

Noviembre, 2019



Juntos
lo logramos

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

CONTENIDO

1. OBJETIVO.....	2
2. INSTRUCCIONES.....	2

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

1. OBJETIVO

Proporcionar los lineamientos para la evaluación sistemática de una respuesta inmune no deseada contra un anticuerpo monoclonal (mAb) terapéutico o de diagnóstico in vivo en los receptores.

2. INSTRUCCIONES

La guía aplica a los anticuerpos monoclonales, sus derivados, y productos de los que son componentes; por ejemplo: conjugados, Fc unido a proteínas de fusión. Está dirigida a productos en fase final de desarrollo (por ejemplo: en estado de aplicación del registro sanitario). Sin embargo, muchos de los principios son relevantes para las fases más tempranas del desarrollo.

Para la evaluación de la inmunogenicidad de anticuerpos monoclonales destinados a uso clínico in vivo, el solicitante de registro sanitario e investigadores deben seguir los siguientes lineamientos:

2.1. Problemas experimentados con ensayos de cribado y de confirmación utilizados en la evaluación de la inmunogenicidad de mAbs

2.1.1. Los ensayos para la detección de anticuerpos

En principio, cualquier formato de inmunoensayo se puede utilizar para medir los anticuerpos contra anticuerpos monoclonales. Sin embargo, los ensayos utilizados para detectar anticuerpos contra mAbs son a menudo más problemáticos, difíciles y pueden ser técnicamente desafiantes. Muchos formatos de ensayo convencionales implican el uso de reactivos anti-inmunoglobulinas tales como anticuerpos contra las inmunoglobulinas, la proteína A o proteína G, pero estos son inadecuados para su uso en la detección de anticuerpos contra mAbs ya que muy a menudo se unen al producto en sí. Así, por ejemplo ELISAs simples y ensayos de radio-inmunoprecipitación generalmente no son adecuados para uso con mAbs a menos que estén adaptados para superar este problema. Por lo tanto, los diferentes enfoques de ensayo tienen que ser desarrollados para mAb. Un enfoque común es utilizar el formato “puente”, por ejemplo para las pruebas ELISA o ensayos de electroquimioluminiscencia, que no requieren reactivos anti-inmunoglobulina y así se puede aplicar directamente a los estudios con mAbs. En algunos casos, este procedimiento puede ser menos sensible que otros métodos de inmunoensayo y puede requerir esfuerzo de desarrollo considerable para producir un ensayo adecuado. También no detectará de manera eficiente anticuerpos IgG que se pueden producir en algunos casos. Otro enfoque es utilizar un procedimiento de Resonancia de Plasmón de la Superficie (RPS). Esto no requiere reactivos anti-inmunoglobulina para la detección de anticuerpos contra mAbs. Es un procedimiento en tiempo real y es por lo tanto rápido y también detecta anticuerpos rápidamente de disociación que se pueden perder por otros métodos. Sin embargo, como RPS simplemente detecta la unión con el chip recubierto se necesita proteínas que se confirme que la señal es causada por anticuerpos. Puede ser menos sensible que otros métodos para la detección de anticuerpos de alta afinidad y, en ausencia de sistemas de muestreo automatizados puede tener un rendimiento bajo.

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

Las muestras (normalmente de suero o plasma) pueden contener sustancias que interfieren con los ensayos, por ejemplo: efectos de matriz que producen resultados positivos o negativos falsos y/o evaluación incorrecta de contenido de anticuerpos. Ejemplos bien conocidos de tales sustancias interferentes son componentes del complemento, proteína de unión a manosa, receptores de Fc, moléculas diana solubles, receptor del complemento 1 y factores reumatoides, pero otras sustancias que incluyen el producto en sí también puede causar problemas. Los ensayos a menudo necesitan ser “a medida” para reducir artefactos y alcanzar los niveles de señal de fondo aceptables, sensibilidad y especificidad. Los solicitantes deben justificar la idoneidad del enfoque elegido, teniendo plenamente en cuenta las limitaciones de los métodos respectivos.

2.1.2. La presencia de producto de mAb en muestras para análisis

Los productos de mAb intactos tienen vidas medias relativamente largas y persisten en circulación durante largos períodos. Incluso los fragmentos pueden persistir en la sangre durante varios días. Esto puede causar problemas significativos en la detección de respuestas de anticuerpos debido a la presencia de producto de mAb en las muestras recogidas para la evaluación de anticuerpos. Esto normalmente resulta en una estimación artefactualmente baja de contenido de anticuerpos de las muestras afectadas y puede ser tan pronunciada como para causar resultados falsos negativos. Se han propuesto varios enfoques para superar este problema. Una posibilidad es retrasar la toma de muestras hasta que los niveles de producto de mAb hayan disminuido lo suficiente como para no causar problemas. Esto se ha considerado para resolver el problema con algunos productos de mAb, pero requiere una evaluación cuidadosa, en virtud que tiene el potencial de no detectar la inmunogenicidad, ya que los anticuerpos inducidos pueden haber disminuido a niveles indetectables para el momento en que se toman las muestras. Otro enfoque es utilizar una metodología que sea menos afectada por el problema. Algunos inmunoensayos basados en electroquimioluminiscencia parecen mucho menos afectados por producto residual en las muestras que otros métodos, incluyendo ELISAs de puente convencionales. Un procedimiento comúnmente descrito para tratar con el problema es incluir una etapa de disociación antígeno-anticuerpo preliminar en el diseño de ensayo de manera que cualquier complejo presente se interrumpa antes de detectar anticuerpos. Varias versiones de ensayos que incluyen incubaciones de ácido, a veces junto con la separación por afinidad de producto se han descrito para esto, pero deben ser evaluados con cuidado para demostrar que los pasos adicionales no invalidan el ensayo. Una última posibilidad es diluir muestras de modo que el producto residual presente es insuficiente para interferir con el ensayo. Este enfoque necesita cuidado ya que puede resultar en una evaluación de falsos negativos de la inmunogenicidad si el ensayo no es suficientemente sensible para detectar anticuerpos en las muestras diluidas. En algunos casos puede ser necesario someter a ensayo las muestras para la cantidad de mAb residual. En muchos casos, el desarrollo de métodos anti-mAb, validación y pruebas utilizan una combinación de los tres enfoques para reducir la interferencia de productos.

2.1.3. Los ensayos confirmatorios

Los ensayos de confirmación pueden sufrir de los mismos problemas que los ensayos de cribado. Es importante seleccionar un ensayo confirmatorio apropiado tomando en

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

consideración las características del ensayo de cribado. El uso de Proteína A y Proteína G puede ser apropiado en ensayos de confirmación para demostrar que la respuesta positiva se debe a una inmunoglobulina; sin embargo, otros enfoques pueden ser utilizados para esto.

2.1.4. Controles

La generación de suero de control positivo es en general un problema crítico para los estudios de inmunogenicidad de mAbs. El suero de control positivo elegido o anticuerpo purificado es importante para el monitoreo de la sensibilidad del ensayo y especificidad. Si sueros humanos no están disponibles (como es posible durante las primeras fases de desarrollo de productos) entonces el uso de sueros animales es la única opción. La elección de especies para esto tiene consecuencias importantes. Los primates no humanos producen respuestas significativas anti-CDR y anti-marco contra mAbs humanos o humanizados, que pueden imitar estrechamente las respuestas humanas y pueden ser un control positivo apropiado. Sin embargo, las especies no primates generalmente producen anticuerpos principalmente contra las regiones constantes del mAb, que es diferente a las respuestas humanas. El uso de un antisuero anti-idiotípico o mAb puede, en algunos casos, proporcionar un control positivo útil. La selección de controles negativos apropiados es importante. Para los ensayos confirmatorios, se pueden usar muestras con un mAb irrelevante para confirmar la especificidad.

2.2. Evaluación de la capacidad de neutralización de anticuerpos inducidos contra mAbs

Los mAbs ejercen su acción por diversos mecanismos van desde la simple unión a antígeno, que solo media el efecto clínico, a la unión al antígeno y la mediación de uno o más mecanismos inmunobiológicos que se combinan para producir la respuesta clínica global. Por lo tanto, aunque una unión sencilla puede parecer ser el único mecanismo operativo para lograr la eficacia clínica, otros efectos pueden también desempeñar un papel en esto. En algunos casos múltiples funciones del mAb pueden estar involucrados en un aditivo o de manera sinérgica para producir un efecto clínico combinado general y esto puede ser difícil de diseccionar experimentalmente para permitir una comprensión clara de cómo el mAb media su potencia clínica. Por lo tanto, si se utilizan anticuerpos monoclonales intactos, se debe tener cuidado de no asumir que los efectos inmunes biológicos mediados por el Fc del producto no están involucrados en la eficacia clínica, incluso cuando se considera una unión de antígeno simple a ser el principal modo de acción. En este sentido, el uso de un ensayo basado en células para la medición de la neutralización tiene una ventaja. En tales casos una caracterización biológica exhaustiva del mAb debe llevarse a cabo, utilizando ensayos biológicos e inmunológicos adecuados. Después de esto, las propiedades del mAb necesitan ser evaluadas para permitir la selección de una estrategia de ensayo de neutralización apropiada.

Los anticuerpos que neutralizan la actividad biológica de los productos biológicos pueden disminuir la eficacia clínica del producto. Se espera normalmente que la capacidad neutralizante de cualquier anticuerpo inducido sea medida. Cualquier desviación de esta necesidad debe justificarse. Para la mayoría de los productos biológicos, el ensayo de anticuerpos neutralizantes más apropiado es un bioensayo que mide la neutralización de la bioactividad del producto por anticuerpos. Sin embargo, la naturaleza del modo de acción clínico de los mAbs implica que los anticuerpos inducidos que bloquean la unión del mAb a la diana son aquellos que se asocian

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

principalmente con una eficacia clínica reducida. Por lo tanto, los ensayos competitivos de unión pueden ser los ensayos neutralizantes de elección para mAbs en lugar de los bioensayos clásicos. Esto distingue a los mAbs de otras clases de productos biológicos con respecto a la evaluación de inmunogenicidad.

2.3. Gestión del riesgo de inmunogenicidad de anticuerpos monoclonales.

2.3.1. Identificación del riesgo

La inmunogenicidad de mAbs es compleja y hay un número de factores a menudo mal entendidos que hacen que sea difícil predecir con certeza si un anticuerpo monoclonal terapéutico o de diagnóstico es probable que provoque una respuesta inmune clínicamente relevante. Se han desarrollado enfoques no clínicos in vitro destinados a identificar epítomos de células T, pero estos tienen una capacidad limitada para predecir la inmunogenicidad de un agente terapéutico en humanos. Sin embargo, tales procedimientos pueden ser útiles para seleccionar moléculas candidatas para un mayor desarrollo.

Los aspectos estándar de inmunogenicidad como se describe en la guía para la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas deben llevarse a cabo para cada nuevo mAb terapéutico, teniendo en cuenta sus características, la naturaleza del uso previsto y la indicación terapéutica.

Los datos preliminares de inmunogenicidad de los primeros estudios clínicos pueden proporcionar información que puede ser útil para planificar estudios posteriores, por ejemplo: explorar el desempeño de los ensayos bioanalíticos, la detección de anticuerpos preexistentes u otros factores que podrían confundir el reconocimiento de anticuerpos emergentes del tratamiento contra los mAbs. Según una estrategia de identificación y evaluación de riesgos como se describe más adelante, el programa estándar de pruebas de inmunogenicidad puede reducirse con una justificación exhaustiva, o puede ser necesario intensificarlo, dependiendo del nivel de riesgo identificado. El solicitante siempre debe presentar una identificación exhaustiva del riesgo que tenga en cuenta la naturaleza del producto junto con su uso previsto.

a) El conocimiento previo

El conocimiento disponible o la falta de conocimiento acerca de otros mAbs similares (por ejemplo: de la misma clase objetivo, expresada en el mismo sistema de expresión) es una consideración importante. La percepción de riesgo puede ser mayor si la metodología sea para detectar anticuerpos contra mAbs o para detectar consecuencias clínicas (por ejemplo: concentración mínima de mAb, parámetros PD y respuesta al tratamiento mAb) de anticuerpos contra mAbs no es suficientemente sensible. En tales casos, puede ser necesario considerar un monitoreo más extenso de la dinámica de respuesta anti-mAb en relación con el resultado terapéutico.

b) Estructura Mab

En principio, se pueden producir anticuerpos contra diversos epítomos presentes en diferentes partes de la molécula de mAb, por ejemplo: regiones variables o constantes. Para

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

heterólogos, por ejemplo: secuencia de roedores o mAbs quiméricos, el reconocimiento del anticuerpo como extraño es la base principal para la inmunidad mediada por anticuerpos y los anticuerpos pueden ser provocados contra cualquier parte de la molécula. Con los mAbs de secuencia humana o humanizada, la respuesta inmune es predominantemente antiidiotípica (ya que las regiones determinantes de complementariedad tienen una secuencia hipervariable), lo que claramente puede comprometer las respuestas clínicas al mAb. Sin embargo, en algunos casos, se pueden inducir anticuerpos contra la región constante de mAb humanos o humanizados y esto puede afectar las funciones efectoras del mAb con posibles consecuencias sobre la respuesta clínica. Hay menos experiencia clínica con construcciones emergentes basadas en mAb y esto puede aumentar la percepción de riesgo. Se debe prestar especial atención a los productos de próxima generación, por ejemplo: mAbs biespecíficos o fragmentos de mAb y su capacidad para exponer determinantes antigénicos ocultos.

Los patrones de glicosilación alterados pueden disminuir o aumentar las propiedades inmunogénicas de la molécula (por ejemplo: cambio en el blindaje de la estructura de la proteína). Patrones de glicosilación no típicos, por ejemplo: tal como se encuentra al adoptar sistemas de expresión completamente nuevos; puede introducir un mayor riesgo de inmunogenicidad en comparación con los sistemas de expresión más comúnmente utilizados. Otros factores que influyen en la inmunogenicidad incluyen impurezas derivadas del proceso de producción y otros atributos de calidad. Por lo tanto, el enfoque analítico y clínico para evaluar, caracterizar y potencialmente mitigar tales riesgos potenciales puede ser más extenso, y el riesgo relacionado con la calidad del producto debe identificarse adecuadamente.

Por ejemplo, un mAb contra un objetivo donde existe una experiencia previa sustancial, pero que se produce usando un sistema de expresión novedoso, puede tener un riesgo bajo percibido en cuanto a su mecanismo de acción, pero un riesgo mayor en cuanto al impacto potencial de impurezas donde poca experiencia existe con respecto a sus efectos sobre la seguridad.

c) Mecanismo de acción:

El modo de acción del mAb (por ejemplo: Citolítico, apoptótico), y especialmente la naturaleza de la molécula diana (por ejemplo: Inmunodepresión, inmunoestimulante), debe caracterizarse adecuadamente e investigarse exhaustivamente. Las respuestas de anticuerpos contra mAbs que se dirigen al idiotipo de un mAb generalmente dan como resultado una eficacia disminuida. Del mismo modo, el impacto de los anticuerpos contra los mAbs que reconocen regiones alotípicas u otras regiones debe considerarse con cuidado, ya que la formación de complejos inmunes puede provocar efectos no deseados en los receptores.

Los efectos indirectos de los anticuerpos inducidos por los mAb también pueden ser importantes, por ejemplo: es posible que los mAb que atacan a las moléculas involucradas en las cascadas de señalización puedan inducir anticuerpos que entrecruzan las moléculas diana de una manera agonista, lo que puede conducir a una mayor activación del sistema inmune y posiblemente a los síndromes de liberación de citocinas. Esto puede ser difícil de predecir a nivel del paciente individual. Para los mAbs agonistas o para los mAbs donde el entrecruzamiento podría, por consideraciones teóricas, conducir a la inmunoactivación, los

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

solicitantes deben considerar la observación cuidadosa de los pacientes en los primeros ensayos clínicos para ver si ocurren tales eventos.

d) Factores clínicos

La inmunogenicidad está significativamente influenciada por factores clínicos. La inmunogenicidad para los mAb puede estar relacionada con la edad, por ejemplo: el recambio proteico es diferente en niños en comparación con adultos y esto puede dar lugar a diferencias en la inmunogenicidad observada, por ejemplo: para anticuerpos utilizados en el tratamiento de la artritis juvenil en comparación con la artritis reumatoide a dosis comparables. La exposición previa a anticuerpos monoclonales similares o relacionados también puede influir en la inmunogenicidad. Los anticuerpos terapéuticos utilizados con esquemas de dosificación intermitente tienen una mayor probabilidad de inducir inmunogenicidad que cuando se utilizan en un esquema de dosificación programada y repetida.

Si los anticuerpos contra un mAb tienen efectos clínicamente significativos depende del sitio de unión del anticuerpo, la afinidad del anticuerpo por el mAb y el título de los anticuerpos que se desarrollan. Los anticuerpos contra los mAb pueden aparecer de manera transitoria y luego desaparecer durante el tratamiento o, alternativamente, persistir durante todo el tratamiento o durante más tiempo. Para algunas terapias de mAb, el desarrollo de anticuerpos no tiene consecuencias clínicas adversas aparentes, pero para otras reduce la eficacia o está asociado con eventos adversos relacionados con la terapia.

2.3.2. Evaluación del riesgo

Numerosos factores contribuyen a la generación de una respuesta inmune contra un mAb y éstos necesitan una consideración como parte de la evaluación de riesgos.

Los factores que afectan la incidencia y la gravedad de una respuesta inmune contra un mAb (factores de riesgo relacionados con el producto, el proceso y el paciente/enfermedad) pueden formar la base de un enfoque en el que dichos factores de riesgo se comparan con la disponibilidad y la viabilidad de la evaluación del riesgo (o identificación) y estrategias de mitigación. La identificación de riesgos, basada en los factores discutidos anteriormente, conduce a una evaluación que integra los riesgos individuales en el contexto clínico y un programa de inmunogenicidad diseñado adecuadamente como parte del desarrollo clínico. La evaluación del riesgo requiere un enfoque multidisciplinario que tenga en cuenta todos los riesgos identificados (por ejemplo: relacionados con la estrategia de control de calidad del producto, incluida la formulación del producto, la justificación de los límites de aceptación para las variantes relacionadas con el producto y las impurezas relacionadas con el proceso). Esto también implica que la evaluación general del riesgo debe estar vinculada a cualquier ejercicio de comparabilidad que se realice potencialmente durante el desarrollo, en caso de que se produzcan cambios en el mAb utilizado en las diferentes etapas del desarrollo del producto.

Un aspecto fundamental de la evaluación de riesgos es, por lo tanto, la evaluación de la tasa de ocurrencia y las consecuencias clínicas de una respuesta inmune no deseada, y si estas consecuencias pueden prevenirse, medirse adecuadamente y/o tratarse médicamente. Dependiendo del riesgo identificado y las medidas disponibles para monitorear y mitigar ese

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

riesgo, el programa de pruebas de inmunogenicidad puede ser menor o mayor que el descrito en la guía general (Guía para la evaluación de la inmunogenicidad de las proteínas terapéuticas). En cualquier caso, los solicitantes deben justificar y discutir su enfoque.

Dependiendo de la clase y subclase del mAb (que afecta las funciones inmunobiológicas, por ejemplo: la unión a los receptores Fc) o el mecanismo de acción, los productos de mAb individuales pueden no tener las mismas consecuencias clínicas asociadas con una respuesta inmune no deseada. Por ejemplo: los mAbs pueden neutralizarse mediante anticuerpos, lo que resulta en una eficacia reducida o puede provocar eventos adversos, como reacciones a la infusión y/o formación de complejos inmunes. Tales reacciones de infusión pueden ser graves, pero (a diferencia de las reacciones de hipersensibilidad alérgica) pueden manejarse con medidas clínicas apropiadas, como el uso de medicamentos previos. Asimismo, en caso de pérdida de eficacia, la disponibilidad de otros mAbs o proteínas terapéuticas relacionadas como opciones de tratamiento alternativas puede ser un factor importante para una estrategia de mitigación de riesgos. Como principio rector general, se deben presentar datos suficientes para estimar la gravedad, la tasa de ocurrencia y la detectabilidad de los riesgos al momento de solicitar un registro sanitario.

Es posible que estos riesgos tengan que ser respaldados por la vigilancia y el monitoreo posteriores a la comercialización, según sea necesario. Como punto de partida, las siguientes consideraciones pueden ser útiles para la evaluación y mitigación de riesgos:

- a) Una estratificación de riesgos basada en los principios de identificación de riesgos, integrada con factores relacionados con el producto como, por ejemplo: identificación de motivos inmunogénicos intrínsecos, perfil fisicoquímico que incluye agregados u otras variantes relacionadas con el producto o procesos, información del desarrollo de la formulación, por ejemplo: solubilidad a pH fisiológico, ubicación del antígeno objetivo, etc.
- b) Ensaye los detalles de rendimiento, especialmente el grado en que la sensibilidad del formato de ensayo del anticuerpo mAb seleccionado se ve comprometida por el producto circulante residual.
- c) En caso de deficiencias inevitables en el ensayo, la disponibilidad de medidas que pueden complementar la monitorización de anticuerpos mAb, por ejemplo: Mediciones PD o parámetros PK.
- d) La disponibilidad de ensayos que detectan respuestas inmunes tempranas (por ejemplo: medición temprana de mAbs de unión, medición de IgM para detectar respuestas inmunes tempranas).
- e) La vulnerabilidad de la población de pacientes; índice terapéutico; estado autoinmune, uso de medicación inmunosupresora, etc.
- f) En el contexto oncológico, la pérdida de respuesta puede ser más difícil de detectar que en otras condiciones clínicas, ya que puede ser difícil relacionar la progresión tumoral con el desarrollo de anticuerpos; la progresión de la enfermedad y la consiguiente pérdida de respuesta a la terapia generalmente se observa en prácticamente todos los pacientes después de un cierto tiempo, y puede ser difícil distinguir esto de los efectos mediados por los anticuerpos. Por lo tanto, una medición más intensa puede tener lugar durante los ensayos clínicos para estimar qué esperar en un entorno posterior a la autorización, especialmente cuando hay alternativas terapéuticas disponibles.

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

- g) Para la administración del mAb en el hogar o en la clínica: el tratamiento con mAb en la clínica puede ofrecer ventajas para la mitigación inmediata de las reacciones a la infusión o la anafilaxia en caso de que ocurran, pero el uso en el hogar de los mAbs administrados por vía subcutánea puede ofrecer ventajas para la atención del paciente. Por lo tanto, los solicitantes tendrán que sopesar el riesgo de respuestas inmunes no deseadas y sus consecuencias contra el uso clínico previsto. Por ejemplo, los mAbs con una alta incidencia de reacciones después del uso subcutáneo pueden ser menos adecuados para uso doméstico.
- h) Disponibilidad de tratamientos alternativos o procedimientos de diagnóstico en caso de pérdida de eficacia o inducción de reacciones de infusión o anafilaxia.

2.3.3. Monitoreo y mitigación de riesgos

Siguiendo este enfoque de identificación y evaluación de riesgos, los solicitantes deben planificar cuidadosamente este concepto temprano en el desarrollo del producto, y volver a revisarlo y actualizarlo regularmente durante el desarrollo del producto y todo el ciclo de vida del producto mAb a medida que se disponga de nuevos datos. Al comienzo del desarrollo clínico, los solicitantes pueden, por ejemplo, tener que asignar un nivel de riesgo más alto al mAb, aunque el mecanismo de acción per se no necesariamente sugiere un riesgo más alto, si otros factores lo hacen necesario. El nivel de riesgo puede, dependiendo de los resultados de ensayos clínicos más grandes, necesitar ser reconsiderado después de los ensayos. En el momento de la solicitud de registro sanitario, los solicitantes deben justificar y discutir a fondo su concepto general para el diseño y el alcance de las pruebas de inmunogenicidad utilizadas durante su programa de desarrollo.

Para los productos que se afirma que exhiben una ventaja particular con respecto al potencial inmunogénico (por ejemplo: una reclaración en el Resumen de las características del producto), generalmente se requieren datos apropiados para respaldar esto. Dependiendo del resultado de la evaluación de riesgos, en algunos casos pueden ser necesarias pruebas más detalladas y adicionales durante los ensayos clínicos. Por ejemplo, en algunos casos, las pruebas de IgE antes de la administración clínica deben considerarse para los pacientes si el mAb contiene estructuras de carbohidratos no humanos, por ejemplo: Galactosa- α -1,3-galactosa, para prevenir la anafilaxia severa. Otra instancia en la que se debe considerar el desarrollo de pruebas de IgE es donde la incidencia de reacciones alérgicas fue alta en la primera administración durante el desarrollo clínico temprano del producto. Si bien la medición de los niveles de las subclases de IgG u otras clases de Ig como la IgA, normalmente no son un requisito estándar para la evaluación de inmunogenicidad de los mAbs, pueden ser necesarios como parte de dicho enfoque cuando se han identificado ciertos riesgos (por ejemplo, aplicación nasal). Sin embargo, generalmente se requiere la determinación de la capacidad neutralizante y de mAbs transitorios versus persistentes mediante muestreo repetido.

La frecuencia y el momento del muestreo y el análisis pueden variar según el nivel de riesgo relativo identificado. Para mAbs de menor riesgo, puede ser posible reducir la frecuencia de muestreo en etapas posteriores del desarrollo, siempre que no se hayan observado eventos adversos o una eficacia reducida. No obstante, el almacenamiento de muestras debe realizarse de forma rutinaria durante todo el programa de desarrollo. Tal enfoque debe estar

ANEXO 2. GUÍA DE USUARIO
GUÍA PARA LA EVALUACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES
DESTINADOS A USO CLÍNICO IN VIVO

debidamente justificado. Para los mAbs en los que se determina un riesgo mayor, el muestreo puede ser más frecuente durante todo el desarrollo clínico. En esta situación, puede ser aconsejable analizar muestras en tiempo real. Puede ser necesario durante el desarrollo clínico medir los niveles de anticuerpos, PK, marcadores PD, eficacia y seguridad simultáneamente y durante un período de tratamientos repetidos. Esto permite la evaluación de la importancia clínica del desarrollo de anticuerpos, y también si el efecto del anticuerpo cambia con el tiempo, lo que podría ocurrir como resultado del aumento en el título y/o el cambio de isotipo / maduración de la afinidad de la respuesta de anticuerpos. Los anticuerpos anti-mAb no neutralizantes pueden afectar indirectamente la eficacia al unirse al producto de mAb y afectar sus propiedades farmacocinéticas. Por lo tanto, la medición de los parámetros PK puede ser una ayuda potencial cuando se planifica cómo medir una respuesta de anticuerpos anti-mAb. La información derivada de los ensayos se puede utilizar para la gestión de riesgos. Por ejemplo, cuando la identificación y evaluación de riesgos ha concluido que se requiere la identificación temprana de una respuesta inmune y permite la posibilidad de suspender el tratamiento con el mAb, el desarrollo de anticuerpos IgM de baja afinidad puede ser un indicador de una respuesta inmune temprana y medir la IgM las respuestas podrían ayudar en la identificación temprana de pacientes que tienen una respuesta inmune. Asimismo, la detección de anticuerpos de unión no neutralizantes puede ser una indicación temprana del desarrollo posterior de anticuerpos neutralizantes.

Las estrategias de mitigación de riesgos podrían incluir, por ejemplo, estudiar cómo manejar eficazmente a los pacientes que muestran una respuesta inmune, por ejemplo: si los horarios de dosificación pueden intensificarse sin comprometer la seguridad del paciente, etc. Sin embargo, las consideraciones de viabilidad deberán tenerse en cuenta como parte de esto.

Al presentar una solicitud de registro sanitario, se recomienda que los solicitantes presenten un resumen integrado de su estrategia sobre identificación, caracterización, monitoreo, minimización y mitigación de riesgos. Este enfoque basado en el riesgo también debería haberse tenido en cuenta para el plan de gestión de riesgos, debatiendo cómo los riesgos identificados por los datos del programa de desarrollo y los riesgos potenciales, o la información faltante, se deben manejar en un entorno posterior a la autorización.