

## **El panorama científico del estado de los biosimilares a nivel mundial y su concepción de la biosimilaridad frente a sus atributos de calidad**

### **The scientific overview of the status of biosimilars worldwide and its conception of biosimilarity vs. Its quality attributes**

**Diego Lorenzana Suárez**

Universidad Internacional Iberoamericana, España (diego.lorenzana@doctorado.unib.org)  
(<https://orcid.org/0009-0007-2175-3529>)

---

#### **Información del manuscrito:**

**Recibido/Received:** 21/03/24

**Revisado/Reviewed:** 05/04/24

**Aceptado/Accepted:** 09/05/24

---

#### **RESUMEN**

**Palabras clave:**

biosimilares, atributos de calidad, armonización

El intento de acercamiento de tratamientos biológicos, con elevado coste para los ciudadanos, ha impulsado el nacimiento y crecimiento de los medicamentos biosimilares. Moléculas cuya producción está enfocada a ser copias de los principios activos de los medicamentos de origen biológico catalogados como innovadores. Al ser moléculas biológicas, el hecho de ser copias del principio activo se hace complejo, pues pequeñas variaciones en su composición bioquímica pueden afectar a su seguridad y eficacia. A diferencia de los innovadores, cuyo razonamiento de comercialización está dirigido a la seguridad del medicamento mediante estudios clínicos, base para ser comercializado en condiciones seguras, sin embargo, los medicamentos biosimilares, se centran en que sus atributos de calidad sean los más próximos a la molécula que pretenden sustituir. Por ese motivo, mediante el estudio de los atributos críticos de calidad, y los moduladores que le afectan, es posible establecer una clasificación de los mismos que permitan la armonización del concepto biosimilar. Los atributos que caracterizan a las moléculas son antagonistas o complementarios entre sí, permitiendo establecer un rango de aceptación que permita el desarrollo de un sistema de graduación de la comparabilidad entre innovadores y biosimilares, acercando el concepto hasta la fecha teórico, a un aspecto cuantitativo. Pero siempre tomando en consideración aspectos fundamentales como la incidencia del error del laboratorio en su valoración. Por lo que, basándose en un modelo armonizado del concepto del atributo de calidad, este debe ser reformulado hacia un término que unifique el concepto con su error intrínseco, de manera que pueda ser valorado de forma armonizada.

---

**ABSTRACT**

**Keywords:**

biosimilars, quality attributes, harmonization.

The attempt to bring closer biological treatments, with high cost for citizens, has boosted the birth and growth of biosimilar drugs. Molecules whose production is focused on being copies of the active ingredients of drugs of biological origin catalogued as innovative. As they are biological molecules, the fact of being copies of the active ingredient becomes complex, as small variations in their biochemical composition can affect their safety and efficacy. Unlike innovators, whose marketing rationale is aimed at the safety of the drug through clinical studies, the basis for being marketed under safe conditions, however, biosimilar drugs focus on ensuring that their quality attributes are as close as possible to the molecule they are intended to replace. For this reason, by studying the critical quality attributes and the modulators that affect them, it is possible to establish a classification of these attributes that will allow harmonization of the biosimilar concept. The attributes that characterize the molecules are antagonistic or complementary to each other, making it possible to establish a range of acceptance that allows the development of a system for grading the comparability between innovators and biosimilars, bringing the concept, which to date has been theoretical, closer to a quantitative aspect. But always taking into consideration fundamental aspects such as the incidence of laboratory error in its assessment. Therefore, based on a harmonized model of the concept of the quality attribute, this should be reformulated towards a term that unifies the concept with its intrinsic error, so that it can be assessed in a harmonized way.

---

## **Introducción**

En la última década, los biosimilares han experimentado un crecimiento exponencial, transformando el paradigma de tratamiento para diversas enfermedades (1).

Son medicamentos biológicos que se han vuelto cada vez más populares en el mundo (2) y son similares a otros medicamentos biológicos que ya están en el mercado, conocidos como productos biológicos de referencia. Sin embargo, a diferencia de éstos, los biosimilares no son idénticos en términos de estructura molecular (3) y su objetivo es proporcionar alternativas más asequibles y accesibles a los productos biológicos de referencia (4). Estos medicamentos han demostrado ser igualmente eficaces y seguros en comparación con los productos biológicos de referencia en numerosos estudios clínicos.

En la actualidad, los biosimilares están disponibles en muchos países de todo el mundo, pero sus regulaciones son diversas y en muchos casos difusas. La Unión Europea ha sido pionera en la aprobación de biosimilares desde 2006 (5), y ha establecido un marco regulatorio sólido para garantizar su calidad, eficacia y seguridad. Otros países, como los Estados Unidos y Japón, también han desarrollado sus propios marcos regulatorios para la aprobación de biosimilares. Siendo uno de los hitos más importantes para los biosimilares la aprobación del primer biosimilar por parte de la Organización Mundial de la Salud (6).

En términos de indicaciones terapéuticas, estos medicamentos cubren una amplia gama de áreas terapéuticas, como la oncología, la reumatología y la diabetes. Se ha demostrado que estos medicamentos son eficaces para tratar diversas enfermedades y afecciones, lo que los convierte en una opción atractiva para muchos pacientes y profesionales de la salud.

Sin embargo, a pesar de los avances en el campo de la biosimilaridad, aún existen desafíos que se deben superar. Uno de los principales desafíos es la educación y la conciencia pública sobre los biosimilares, ya que muchos pacientes y profesionales de la salud todavía pueden tener dudas o preocupaciones sobre la calidad y la eficacia de los biosimilares en comparación con los productos biológicos de referencia (5).

Además, el acceso a los biosimilares puede variar de un país a otro debido a las regulaciones y políticas nacionales. Algunos países han implementado políticas de sustitución automática de productos biológicos de referencia por biosimilares, lo que ha contribuido a un mayor uso y acceso, sin embargo, en otros países, la adopción de biosimilares puede ser más lenta debido a barreras legales o económicas (7).

En base a esto, este artículo tiene como objetivo examinar críticamente el estado científico de los biosimilares, destacando los progresos regulatorios y la evolución de la investigación en esta área, apoyándose en la estadística como medio de establecer una definición del término biosimilar con mayor estandarización.

Estado actual de los biosimilares en el mundo.:

### **1. Regulación Global:**

Los marcos regulatorios de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) han sido pilares fundamentales en el desarrollo de biosimilares. Como se ha mencionado anteriormente, la regulación global de los biosimilares se encuentra en constante evolución y varía entre diferentes regiones y países. Sin embargo, existen ciertos aspectos clave que se consideran en la regulación de los biosimilares a nivel mundial (8).

En general, los reguladores internacionales consideran la comparabilidad, la calidad, la eficacia y la seguridad de los biosimilares para garantizar que estos

medicamentos sean equivalentes a los productos biológicos de referencia. Algunos de los elementos clave de la regulación global de los biosimilares son los siguientes (9):

a. Evaluación comparativa: Los reguladores exigen estudios comparativos entre los biosimilares y los productos biológicos de referencia, los cuales incluyen análisis de características fisicoquímicas, funcionales, farmacocinéticas y farmacodinámicas. Esto es fundamental para demostrar que los biosimilares son similares en términos de estructura y función a los productos biológicos de referencia.

b. Estudios clínicos: Los biosimilares también deben someterse a estudios clínicos comparativos que demuestren su eficacia y seguridad en comparación con los productos biológicos de referencia. Estos estudios pueden incluir ensayos clínicos de fase III o estudios de bioequivalencia, dependiendo de los requisitos de cada regulación nacional o regional.

c. Farmacovigilancia: Los reguladores enfatizan la importancia de una adecuada farmacovigilancia para monitorear y evaluar los efectos secundarios y la seguridad a largo plazo de los biosimilares una vez que se encuentran en el mercado. Esto se realiza a través del seguimiento y el análisis de datos sobre la seguridad y la eficacia de los biosimilares.

d. Cambio de fabricante: La regulación global también aborda el cambio de fabricante de biosimilares y la necesidad de demostrar la equivalencia entre las diferentes versiones del medicamento en términos de calidad, eficacia y seguridad.

e. Etiquetado y nomenclatura: La regulación también incluye requisitos para el etiquetado de los biosimilares, asegurando que los pacientes y los profesionales de la salud puedan identificar claramente los medicamentos y distinguirlos de los productos biológicos de referencia. Además, la adopción de una nomenclatura adecuada y distintiva para los biosimilares es considerada importante.

Si bien existen directrices y regulaciones internacionales para los biosimilares, cada país o región tiene su propio enfoque y proceso de aprobación que debe ser escrupulosamente seguido por las farmacéuticas. Algunas regiones, como la Unión Europea, los Estados Unidos y Japón, han desarrollado regulaciones específicas y marcos regulatorios más completos para los medicamentos de esta catalogación. Sin embargo, aún se requiere un mayor esfuerzo para lograr una mayor armonización y convergencia en la regulación global de los biosimilares, ya que los criterios cualitativos priman en su definición.

## 2. Desarrollos Científicos:

El avance científico en la caracterización y fabricación de biosimilares es esencial para garantizar su calidad y eficacia.

El desarrollo científico de los biosimilares es un campo en crecimiento constante, impulsado por avances tecnológicos y conocimientos científicos en biología molecular, genómica y biotecnología. A continuación, se presentan algunos aspectos destacados del actual desarrollo científico de los biosimilares (10,11):

a. Caracterización analítica: La caracterización exhaustiva de los biosimilares es esencial para demostrar su similitud con los productos biológicos de referencia. Se utilizan técnicas avanzadas de biología molecular, cromatografía, espectrometría de masas y análisis de plegamiento y agregación de proteínas para evaluar la estructura, pureza y actividad biológica de los biosimilares.

b. Modelado y simulación: El modelado computacional y la simulación se utilizan en el desarrollo de biosimilares para predecir y optimizar las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Esto ayuda a establecer la estrategia de desarrollo y a identificar las características críticas de los biosimilares.

c. Estudios preclínicos: Los estudios preclínicos desempeñan un papel importante en la evaluación de la toxicidad y la actividad biológica de los biosimilares. Se realizan estudios *in vitro* e *in vivo* para demostrar la similitud entre los biosimilares y los productos biológicos de referencia.

d. Estudios clínicos: Los estudios clínicos comparativos son cruciales para establecer la equivalencia en términos de eficacia, seguridad e inmunogenicidad entre los biosimilares y los productos biológicos de referencia. Estos estudios suelen involucrar a pacientes con enfermedades específicas y evalúan parámetros clínicos y farmacocinéticos.

e. Innovaciones en producción: La producción de biosimilares ha experimentado avances tecnológicos significativos, lo que ha mejorado la calidad y eficiencia de su fabricación. Por ejemplo, las mejoras en los procesos de cultivo celular, la purificación y la formulación han permitido una mayor reproducibilidad y consistencia en la producción de los biosimilares.

f. Medicina de precisión: La medicina de precisión, que se basa en la identificación de características moleculares específicas de los pacientes, también está influyendo en el desarrollo de biosimilares. Se están investigando enfoques como los medicamentos biosimilares adaptados a un perfil de biomarcadores específico, lo que podría mejorar aún más la eficacia y seguridad en el tratamiento de enfermedades.

En general, el desarrollo científico de los biosimilares continúa evolucionando con el objetivo de mejorar la calidad, eficacia y seguridad de estos medicamentos, a través de avances en la caracterización analítica, la modelización y simulación, los estudios preclínicos y clínicos, la innovación en la producción y el aprovechamiento de la medicina de precisión.

### 3. Adopción y Desafíos:

A pesar de los éxitos, la adopción generalizada de biosimilares enfrenta desafíos persistentes. A pesar de los avances en el campo de los biosimilares, todavía existen varios desafíos que deberán abordarse en el futuro. Estos desafíos incluyen (12):

a. Cambio de mentalidad y educación: Uno de los principales desafíos es cambiar la mentalidad y educar tanto a los profesionales de la salud como a los pacientes sobre los biosimilares. Muchos todavía tienen dudas o preocupaciones sobre la calidad, eficacia y seguridad de estos medicamentos en comparación con los productos biológicos de referencia. Es esencial aumentar la conciencia y comprensión para garantizar una adopción más amplia y confianza en los biosimilares.

b. Regulaciones y políticas más consistentes: Si bien muchos países han establecido marcos regulatorios para la aprobación de biosimilares, todavía existe cierta variabilidad entre las regulaciones y políticas nacionales. Es importante promover una mayor armonización y consistencia en la evaluación y aprobación de biosimilares, lo que facilitaría su entrada y acceso globalmente.

c. Sostenibilidad económica: A medida que los biosimilares ingresan al mercado, pueden proporcionar opciones más asequibles para los pacientes y sistemas de salud. Sin embargo, debido a los costos asociados con la producción y desarrollo de medicamentos biológicos, aún existe la necesidad de abordar la sostenibilidad económica de los biosimilares. Esto implica equilibrar los precios de los medicamentos para garantizar su accesibilidad y mantener la inversión en investigación y desarrollo.

4. Fortalecimiento de la cadena de suministro y la calidad: La calidad y la integridad de los biosimilares son fundamentales para garantizar su eficacia y seguridad. Es importante fortalecer la cadena de suministro (13) y mantener altos estándares de calidad en la fabricación, almacenamiento y distribución de estos medicamentos. Esto

implica establecer y mantener mecanismos efectivos de control de calidad y supervisión regulatoria.

5. Desarrollo de nuevos formatos y tecnologías: A medida que el campo de los biosimilares continúa evolucionando, también es importante invertir en la investigación y el desarrollo de nuevos formatos y tecnologías (14). Esto incluye la formulación de biosimilares en diferentes presentaciones, como tabletas o inhaladores, para brindar opciones y comodidad adicionales a los pacientes y reducir la necesidad de acudir a centros médicos o el entrenamiento requerido para la administración. Las nuevas tecnologías también incluyen el desarrollo de moléculas que permitan atajar varias enfermedades en una única administración, dentro de ellas podemos encontrar investigaciones para hacer moléculas con especificidad para dos o 3 antígenos diferentes, y por tanto obtener tratamientos más específicos o ampliar el rango de actuación (14).

6. Búsqueda de un elemento estandarizado del concepto biosimilar: La actual definición de biosimilar que se utiliza para realizar la estandarización del concepto de biocomparabilidad entre un medicamento innovador y un medicamento genérico, se encuentra reforzada por el hecho de tratarse de moléculas de alta complejidad, por lo cual, la comparación entre ellas debe realizarse desde el punto de vista más cualitativo. Los estudios disponibles sobre cómo catalogar los biosimilares presentan siempre una comparación entre los diferentes atributos de forma individualizada (15–18).

Si se agrupan los estudios individualizados de los atributos de calidad buscando una comparación globalizada, es posible establecer la comparabilidad como concepto clave.

Desde un punto de vista estadístico, y apoyándose en los numerosos estudios individuales de los atributos de calidad (19), es posible establecer si estos atributos son complementarios o antagonistas.

Una de las principales dificultades que se encuentran las agencias regulatorias a la hora de aprobar un dossier de un medicamento que pretende ser biocomparable a un medicamento de referencia es que los resultados analíticos de los diferentes atributos críticos de calidad (CQA, de sus siglas en inglés) son presentados de forma individualizada. Esta forma de caracterizar un biosimilar puede ocasionar pérdida de conocimiento o un enmascaramiento del mismo, al no debatir la complementariedad entre los mismos atributos de calidad junto a otros CQA. Con esta clasificación de los atributos se pretende asegurar que el medicamento puede ser intercambiado, sin ningún perjuicio para el paciente, el tratamiento con el innovador, manteniendo el beneficio para la salud, pero reduciendo el coste del tratamiento o por lo contrario, repercute negativamente en el resultado del tratamiento. Es necesario entender que un medicamento biosimilar, o cualquier medicamento biológico, puede presentar riesgos para la salud que su probabilidad de aparición es altamente variable tanto en tiempo como en efecto (8,20)

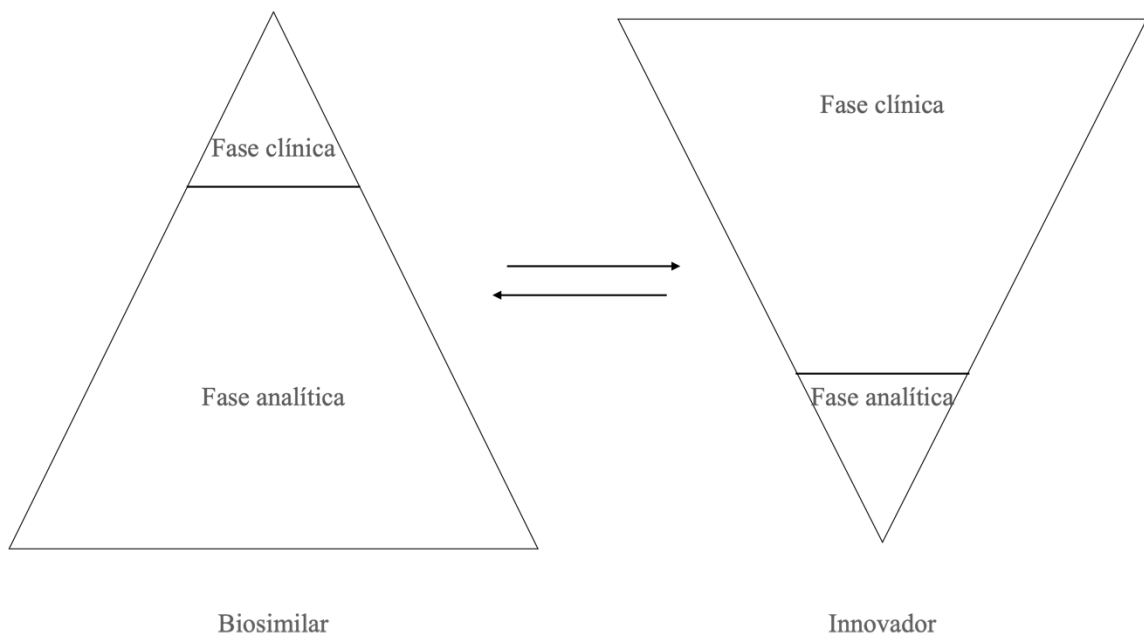
Es fácil argumentar que los diferentes atributos de forma independiente pueden ser comparables frente a un medicamento innovador, pero estos mismos atributos que se encuentran en las diferentes comparaciones que se adjuntan en los dossieres de aprobación (21), no facilitan el entendimiento para el paciente o para personal no entrenado.

Por tanto, la industria debe dirigirse hacia una evolución del concepto de biosimilar, que permita establecer una definición clara y entendible para todo individuo. Con ello se puede dar respuestas a varios de los problemas que se han planteado a lo largo del artículo como son la concienciación y la educación, así como la propia definición.

Una de las formas más sencillas de presentar cualquier información es la gráfica (22), pues a una el concepto estadístico demandado por la industria y las agencias regulatorias, y requiere poco entrenamiento para dilucidar el resultado aportado. Dado que los atributos pueden presentar complementariedad y antagonismo, es una forma fácilmente presentable de la comparabilidad y debe formar parte de la definición del anticuerpo bio-comparable. En el presente artículo se establecen los métodos para la valoración de los atributos de calidad, ya que forman la estructura principal de la definición.

## Método

Para afrontar la definición de biosimilar y alcanzar la armonización de la definición, se debe tomar la clasificación de los biosimilares en diferentes fases, siendo el objeto del presente artículo la fase analítica o preclínica, pues es la de mayor relevancia a la hora de presentar dosieres de preaprobación a cualquier agencia regulatoria o a clientes.



**Figura 1.** Enfoque del desarrollo de un biosimilar frente a un innovador

Como se puede apreciar en la figura 1, la fase analítica o fase preclínica es la fase de mayor relevancia a la hora de establecer un biosimilar, puesto que, según lo indicado en las guías de mayor prestigio internacional, el hecho de ser analíticamente similar para unos o analíticamente comparables para otras, es razón de peso para su aprobación. Dicho concepto forma parte de la base de la metodología al formar parte de las hipótesis identificadas. Por ese motivo, el punto de partida de la metodología son los atributos de calidad. Siendo el punto de partida de los atributos de calidad tan amplio, el objetivo del presente artículo se pretende delimitar en la clasificación de los atributos según su criticidad y del resto de variables que influyen directa o indirectamente en los propios atributos de calidad y cómo valorarlos.

## A. Atributos de calidad

De las guías publicadas por las agencias se puede obtener en conclusión que, para la similaridad y la comparabilidad, recogen unos atributos en común que son la potencia, la actividad biológica y la función. Pero luego nos encontramos separados la estructura, propiedades y estabilidad, con influencia en la similaridad y la inmunogenicidad y farmacología en la comparabilidad. Todo su conjunto debería determinar un biosimilar.

Apoyándonos en la terminología aportada por Kwon et al. (23) sobre los atributos críticos de calidad y las características que influyen positiva y negativamente en la estructura de un anticuerpo indicados por BWG (12) se puede desarrollar una ecuación básica que aglutine todos los aspectos requeridos por las agencias y por la ciencia.

Los autores citados clasifican los atributos de calidad bajo un ranking de 3 niveles, determinando cuales, al criterio que demuestran, son considerados críticos. Apoyándose principalmente en la funcionalidad de la característica indicada en sus escritos, dividen los atributos en siete grandes grupos, implicando su estructura y naturaleza.

- Estructura primaria de la proteína.
- Estructuras de orden superior.
- Variantes cargadas.
- Variantes de masas.
- Oligosacáridos.
- Actividad biológica.
- Contenido.

A estos atributos les otorgan una puntuación de tres niveles de criticidad en comparación con su función biológica o clínica.

Si es cierto, que los atributos indicados son los más relevantes en un anticuerpo monoclonal, y cumple para cualquiera de sus variantes que puedan desarrollarse a futuro, pero el aglutinar en únicamente tres niveles, ocasiona sobreestimación de la criticidad de algunos atributos e infra estimación de otros, ya que los tres niveles se asocian a alto, medio y bajo. Y es cierto que el peor caso es una inmunogenicidad derivada de la molécula, pero no debería estar al mismo nivel de un atributo que influye en un modo de acción, pues de los estudios realizados en laboratorio mediante técnicas *in vitro* o *in vivo*, se obtiene suficiente información como para determinar el alcance de la influencia de ese atributo.

Respondiendo a una de las cuestiones que se plantean, como es la importancia de los atributos, se hace necesario redefinir la criticidad de los atributos que actualmente existen en el campo de los mAbs (anticuerpos monoclonales), pues no influyen exclusivamente en un factor. Un atributo como puede ser la secuencia de aminoácidos no puede incluirse solamente con influencia en la potencia biológica. La secuencia aminoacídica, catalogada como criticidad de nivel 3 por los estudios de Kwon et al. (23), no puede valorarse junto al resto de atributos de calidad pues supone una infraestimación de la verdadera complejidad. Los cambios en regiones específicas de la estructura aminoacídica de la proteína pueden modificar completamente su estructura conformacional por las interacciones de carga, incluso cambiar la función producida, lo que indica que no solo puede afectar a la potencia, si no que puede convertirse en un potencial atributo inmunogénico o simplemente desestabilizar la proteína. Por ese motivo, se determina que el estudio de este atributo debe extraerse del grupo de atributos críticos de calidad y en especial, dejar recaer el peso en las regiones determinantes de la complementariedad (CDR), ya que son las regiones más variables y



las directamente relacionadas con la complementariedad. Estas regiones se encuentran identificadas en bases de datos de proteínas como UniProt y por otra parte pueden ser automáticamente identificadas (24). Pero en el caso de los biosimilares, al ser copias de una molécula original, estas regiones ya están secuenciadas previamente, y solamente es necesario realizar un análisis tipo BLAST comparativo.

El análisis comparativo en particular de estas características nos puede determinar si presenta una complementariedad frente al mismo antígeno, o si se trata de una nueva función para la proteína, razón que radicaría en ser una molécula nueva. (25) Así se determina que no pueden compararse todos los atributos de calidad bajo el mismo paraguas, ni bajo las mismas características clasificatorias. Es de relevancia establecer mayor nivel de caracterización y establecer unos grupos que no se base exclusivamente en su función, si no en todas las interacciones que tienen en un medio vivo.

Del conjunto de información se entiende que es necesario clasificar de nuevo los atributos críticos de calidad, desde una visión más amplia, partiendo de las bases de conocimientos aportadas por Kwon y colaboradores o los publicados por BWG en la conferencia de Fimea 2017.

De tal forma que la relación de una variable analítica, frente a antagonista o potenciadora, representen un sistema biológico complejo a través de los resultados de los propios análisis en laboratorio.

## **Resultados**

Del estudio de los atributos de calidad, se obtuvieron una serie de características o variables de relevancia a la hora de valorar que importancia presentan las diferentes características de los biosimilares y por tanto que relevancia deben aplicarse a la hora de clasificar la comparabilidad de los mismos. Estos atributos pueden agruparse en los siguientes grupos:

### **A. Variables de calidad general**

Los atributos de calidad generales se pueden descomponer en la siguiente clasificación:

- Orden inferior (Estructura primaria a terciaria):
  - Secuencias de aminoácidos: Definen la estructura primaria de la proteína. Del estudio inicial en la investigación de dicho parámetro se obtiene la necesidad de trabajar esta variable de forma independiente al resto por la influencia que posee frente al resto de parámetros. La variable es controlable mediante las bases de datos internacionales y su comparación se realizará por BLAST. Aun así, se someterá al criterio matricial que se desarrollará durante las fases posteriores.
  - Piroglutamato N-terminal: Esta variable debe ser estudiada inicialmente de forma independiente para obtener alcance de sus resultados, técnicas con las que se pueden obtener resultados, influencia del trabajo del analista
  - Lisina C-terminal: al igual que la variable anterior, se debe estudiar la influencia de esta variable y las técnicas con las que se obtienen resultados. A su vez debe identificarse su influencia en la estructura del anticuerpo y afectación a otras variables no estructurales.

- Puentes disulfuro: Intervienen en la definición de la estructura terciaria de la proteína. Se estudiará de forma independiente su influencia en la estabilidad de la proteína.
- Otros aminoácidos libres: Se estudiará la estabilidad de esta variable en la estructura de un anticuerpo monoclonal.
- Orden superior (Estructura cuaternaria): Se evaluará si es relevante el estudio de esta variable en el englobe final de un biosimilar, conociendo su estructura de aminoácidos.
- Variantes de cargas: De las variables citadas a continuación, se estudiarán las técnicas de análisis utilizadas y se valorará la cuantificación de las identificadas como cualitativas.
  - Desamidación.
  - Isomerización.
  - Formas oxidadas.
  - Formas sializadas.
- Variantes de masas: Como las variables de variantes de cargas, se obtendrá la cuantificación de técnicas que por su naturaleza son de carácter cualitativo y se realizará una comparación frente a su influencia en estructura, función e inmunogenicidad.
  - Agregados.
  - Fragmentaciones o productos de degradación.
  - Formas truncadas.
  - Monómeros.
  - PEGilaciones.
- Oligosacáridos: Al igual que otras variables que conforman los atributos críticos de calidad, se deben estudiar matricialmente su influencia en el concepto de biosimilar y a su vez, la influencia de las técnicas aplicadas para obtener datos coherentes. Todos los valores se encuentran disponibles en estudios de campo para diferentes moléculas.
  - Fucosas o galactosas.
  - Glicanos no humanos.
  - Glicanos *High* manosas.
  - Formas no glicosiladas.
- Otras modificaciones postraduccionales: Los cambios en la proteína durante diferentes fases de su desarrollo pueden modificar el diseño inicial de un anticuerpo, siendo parte fundamental a la hora de determinar la comparabilidad y biosimilaridad. Por este motivo, estas variables deben ser estudiadas bajo la matriz de criticidad y su influencia por el factor humano a la hora de obtener resultados. Al ser variables con carácter cualitativo, se cuantificará mediante normalización de sus valores, con el fin de poder comparar todos los datos críticos.
  - Fosforilación: adición de grupos fosfato al anticuerpo.
  - Desamidación: eliminación de un grupo amino del anticuerpo.
  - Oxidación: modificación inicial de grupos de cadena lateral de aminoácidos por ROS y la conversión subsiguiente a carbonilo y otros derivados.
  - Glicación: modificación de grupos amino por la acción de azúcares reductores.
  - Glicosilación: adición de carbohidratos a un anticuerpo.
  - Sulfatación: adición de un grupo trióxido de azufre.

- Isomerización Succinilación: transformación de una molécula en otra.
- Formas de glicanos: Tienen un efecto inmunogénico identificado, pero de diferente influencia dependiendo de su naturaleza. A su vez pueden actuar en la estructura y función de las proteínas.
  - Manosa: Incrementa la eliminación de los anticuerpos y actúa sobre las funciones biológicas.
  - Fucosa: Tienen una influencia directa con las funciones biológicas, mejorando la ADCC y *binding* si se encuentra en menor cantidad.
  - Galactosa: En el caso de estar expuesta, aumenta el aclaramiento de los anticuerpos.
  - GlcNAc: Tienen influencia en la eliminación y en las funciones biológicas de los anticuerpos. Especial relevancia si se bisecciona.
  - Ácido siálico NANA: Tiene actividad antiinflamatoria y es crítico en la eliminación de proteínas de fusión. Se estudiará su influencia en los mAbs.
  - Ácido siálico NGNA: Interfiere en las funciones biológicas de los anticuerpos y es inmunogénico en humanos.
  - Galalfa-3Galbeta1-GlcNAc-R: Es altamente inmunogénico en humanos y produce anafilaxis.
- Actividad biológica: se denominan así al conjunto de variables que su resultado se obtiene de la experimentación *in vitro*.
  - ADCC: De esta variable se obtiene un resultado de potencia que forma parte del desempeño del medicamento en un organismo vivo. Lo que nos indica la capacidad de neutralizar el antígeno.
  - ADCP: De esta variable se obtiene un resultado de potencia que forma parte del desempeño del medicamento en un organismo vivo. Se estudiará compatibilidad con el resto de las variables y el alcance.
  - CDC: De esta variable se obtiene un resultado de potencia que forma parte del desempeño del medicamento en un organismo vivo.
  - Apoptosis: Se debe estudiar el alcance de esta variable pues no todos los medicamentos tienen la misma función. Se estudiará como valorar en caso de no tener influencia en todos los anticuerpos.
  - *Binding*: Variable que destaca la capacidad de unión frente a un antígeno, se determinará su influencia en la estructura de los anticuerpos y su efecto frente a valores de potencia.
  - Unión FcγR: Responde a criterios de especificidad de unión y directamente relacionado con *binding* y potencia. Se debe aclarar el alcance de esta variable en un estudio de biosimilaridad.
  - Unión C1q: Variable que relaciona una de las funciones de los anticuerpos en los sistemas vivos de unión al complemento. Al ser una característica no presente en todos los anticuerpos, se estudiará su relevancia y como incluir en la ecuación final desarrollada durante la investigación.
  - Unión FcRn: También responde a criterios de especificidad de unión y directamente relacionado con *binding* y potencia. Se debe aclarar el alcance de esta variable en un estudio de biosimilaridad.
- Impurezas:
  - Impurezas del hospedador: Al ser una de las características que tienen en común todos los productos farmacéuticos parenterales, se

estudiará si su inclusión presenta relevancia a la hora de determinar si un anticuerpo monoclonal es biosimilar. Dentro de esta variable se encuentran:

- hcDNA, que hace referencia a los fragmentos de DNA de la célula hospedadora que produce el anticuerpo monoclonal. Se mide en partículas por billón mediante PCR y sus valores deben ser despreciables para poder ser aprobados. Su eliminación se produce en las diferentes etapas de purificación de un anticuerpo monoclonal.
- Insulina: molécula necesaria en el desarrollo de un cultivo, pero que no puede estar presente en la formulación final.
- Proteína A: Proteína utilizada en las primeras columnas cromatográficas de la purificación de un anticuerpo por su alta afinidad a regiones del anticuerpo y que sirve para eliminar el resto de los residuos de un cultivo. Del tratamiento de estas columnas para retirar el anticuerpo, puede ocasionarse la liberación de la proteína A y es un inmunogénico. Por lo tanto, se elimina en posteriores tratamientos.
- HCP: son las proteínas que forman parte de la estructura y metabolismo propio de las células hospedadoras. Los valores de esta variable deben ser despreciables en la forma final de un medicamento biológico.
- Lixiviables/Extraíbles: impurezas que tienen efecto adyuvante en el plegamiento. Se debe estudiar su influencia y las técnicas que lo detectan, pues están valoradas en los parámetros críticos de calidad.
- Concentración proteica: Se estudiará dicha variable en la influencia de la fase clínica, pues la concentración que debe tener el fármaco en formato de mercado debe ser idéntica a la del innovador que se pretende comparar. Es un valor incluido en los dosieres técnicos de los productos, así como en los vademécums médicos.

## **B. Variables de calidad por estructura**

- Atributos región variable: Esta variable se estudiará de forma conjunta junto a los parámetros que se detecten durante la investigación que están directamente relacionados a esta región de un anticuerpo.
- Atributos región constante: Se estudiará si existe relevancia de esta región del anticuerpo para la caracterización de un biosimilar. Se determinarán los análisis de calidad que tienen como objeto esta región, con el fin de establecer los atributos críticos de calidad.
- Caracterización fisicoquímica: Esta variable formará parte de la matriz de caracterización de los atributos críticos de calidad. Se determinarán diferentes niveles mediante técnicas de estadísticas o Tier ranking.
- Caracterización biológica y funcional: Esta variable se utilizará para el desarrollo de la matriz de atributos críticos de calidad. Su valor se determinará por métodos estadísticos o Tier ranking durante el desarrollo de la investigación.

## **C. Otras variables de calidad no estructurales**

- Osmolaridad: la concentración de la proteína en la disolución y el resto de los componentes que conforman el buffer en el cual está embebido el

principio activo, puede actuar sobre el resto de las variables de calidad, siendo indispensable dicha comparación. En proteínas en los que la composición puede ser comparable, los cambios de los búferes pueden ocasionar que las propiedades se vean alteradas.

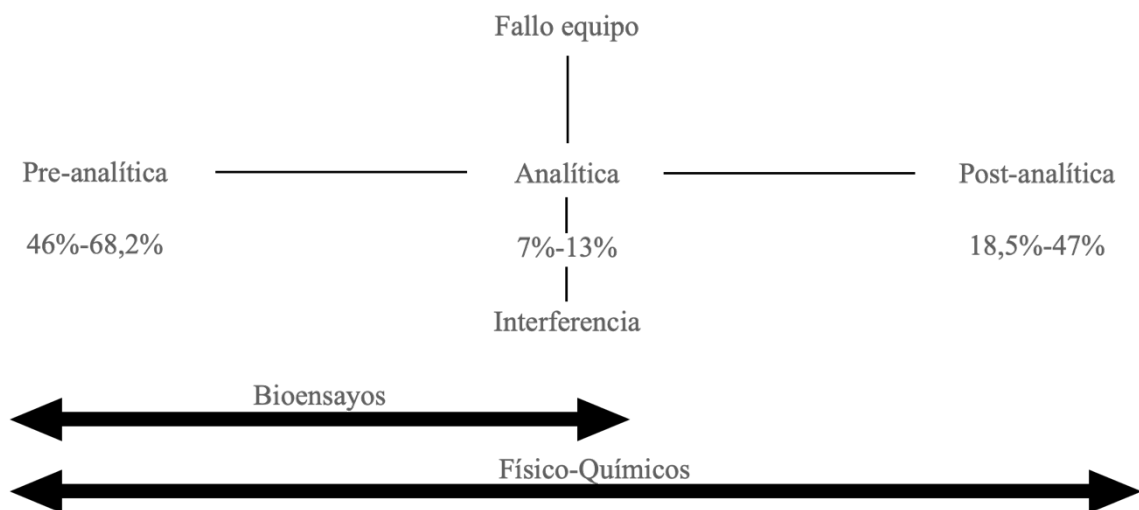
Del estudio de los atributos de calidad de forma individual, y de sus técnicas analíticas se obtuvo como resultado que existe un error intrínseco en las técnicas y en los propios laboratorios, que no se consideran como parte de la relevancia de los atributos desde un punto de vista estadístico:

- Error en el laboratorio: Se desarrollará esta variable a raíz de las metodologías disponibles y adaptando las necesidades de los laboratorios de análisis y desarrollo de la industria biotecnológica bajo metodología GxP. Intervendrá como modulador del análisis de cada parámetro crítico de calidad seleccionado y con base en las técnicas que se utilicen para su obtención.

Dentro de esta variable, se encontró que se deben valorar desde dos puntos de vista:

- Errores del método: Se estudiará la diferencia entre métodos que posean una automatización, frente a métodos principalmente manuales o cuyas fases críticas de análisis dependan de la interacción humana

- Incertidumbre del método: Se estudiará el error sistemático o sesgo presente en el diseño de las técnicas analíticas o en la instrumentación usada para valorar los atributos, frente al error aleatorio fruto de las causas imprevisibles y del trabajo con muestras poblacionales.



**Figura 2.** Errores en las analíticas de laboratorio.

El estudio de la clasificación de los atributos de calidad ha sido desarrollado teniendo en cuenta las tres grandes directrices normativas que se establecen para la valoración de la biosimilaridad de un anticuerpo monoclonal. Dado que la consideración de biosimilaridad, debe venir acompañada de la comparabilidad, estas atribuciones han sido tenidas en cuenta a la hora de la valoración.

Las directrices establecidas por las grandes agencias regulatorias con prestigio internacional establecen unos principios cualitativos para valoración de la relevancia estadística de los atributos de calidad de un anticuerpo monoclonal, teniendo en cuenta que estas agencias presentan normativas afines entre ellas y que son reconocidas por otras agencias y asociaciones como base para establecer las normas internas de sus

respectivos países el inicio del estudio se realizó con una comparativa de las grandes normas frente a sus puntos en común. La Organización Mundial de la Salud establece en sus guías internacionales como puntos críticos para el establecimiento de la biosimilaridad de un anticuerpo monoclonal los siguientes principios:

- Las propiedades físico-químicas incluyendo las propiedades estructurales del anticuerpo
- La actividad biológica del anticuerpo
- Las impurezas presentes en el medio de conservación del anticuerpo
- Las propiedades inmunoquímicas del anticuerpo frente al organismo objetivo
- y las especificaciones técnicas de anticuerpo innovador

Por su parte, la Agencia Europea del Medicamento y la *Food and Drug Administration* de Estados Unidos establecen para las propiedades físico-químicas, unos atributos en particular como críticos, a la hora de establecimiento de la característica biosimilaridad. Dentro de estos atributos característicos se encontrarían la estructura y la función del anticuerpo, las impurezas, la clase y su subclase, la estructura aminoacídica, los aminoácidos N y C terminal, los puentes disulfuro, el contenido de carbohidratos y así como otras modificaciones postraduccionales que puedan influir en la estructura del anticuerpo. Los ensayos *in vitro* tienen gran peso en la mayoría de las agencias como las antes mencionadas, puesto que la capacidad de unión y la fortaleza de unión del antígeno y el anticuerpo forman parte principal de los estudios *in vitro* para la biosimilaridad. Otro de los puntos en común que presentan todas las agencias es que la pureza del anticuerpo, en cuanto a su composición, la presencia de impurezas en su medio y la ausencia de contaminaciones son críticas en la seguridad del paciente.

Se puede sacar en conclusión que para la determinación de la biosimilaridad de un anticuerpo monoclonal no solamente se puede optar por una cuantificación estadística de la relevancia de cada atributo medido en los Certificados de Análisis (CoA) y que por lo tanto forman parte de las especificaciones finales de los anticuerpos monoclonales, sino que se debe contar con los atributos ampliamente reconocidos por las agencias gubernamentales para que la ecuación, y por lo tanto el ÍTEM de atributos de calidad que se está desarrollando sea ampliamente reconocido y admitido.

El estudio del ítem de atributos de calidad se desarrolló teniendo en cuenta los tres campos analizados en la metodología. Dentro de estos campos se encuentran los atributos de calidad reconocidos por la bibliografía científica, los atributos de calidad considerados críticos por las agencias regulatorias internacionales para el establecimiento de la biosimilaridad y de la biocomparabilidad y las especificaciones técnicas de los anticuerpos monoclonales comercializados y de las cuales se dispone de documentación relevante.

Para los atributos de calidad reconocidos por la bibliografía científica se han obtenido los siguientes resultados.

Los estudios desarrollados para establecer los atributos de calidad críticos en los anticuerpos monoclonales que pretenden ser un anticuerpo biosimilar se basan en establecer criticidad cualitativa a sus diferentes atributos. En los estudios de Kwon et al. (23), se establece una puntuación de 3º de confianza para la estructura primaria y estructuras superiores, variantes cargadas, variantes de masas, oligosacáridos, atributos biológicos y contenido. los diferentes grados de criticidad otorgados por esta puntuación hacia los diferentes impactos que pueda sufrir en la función biológica o en la función clínica del propio medicamento no se le tienen en cuenta los métodos analíticos por los cuales se puede determinar dicha criticidad realizando un estudio más pormenorizado de cada uno de los atributos que pertenecen a la clasificación desarrollada por Kwon et

al (23), se puede ver que a un mismo impacto en la función biológica o clínica se le atribuye una criticidad diferente aun siendo la misma técnica analítica la que puede arrojar resultados específicos.

En la Tabla 1 se puede estudiar la comparativa entre las variables a tener en cuenta para una puntuación de la criticidad de un atributo de calidad frente a un impacto y el método analítico más comúnmente utilizado en la industria farmacéutica para obtener resultados específicos.

**Tabla 1.** Relación de los atributos de calidad y su criticidad desde un punto de vista cualitativo.

| Atributo de calidad              | Criticidad | Impacto en la función biológica/clínica                      | Método analítico  |
|----------------------------------|------------|--|---|
| <b>Estructura 1<sup>a</sup></b>  |            |  |   |
| Secuencia de aminoácidos         | +++        | Potencia   |   |
| Piroglutamato N-terminal         | ++         | Farmacocinética <i>in vivo</i>                               | Mapeo peptídico, degradación de Edman   |
| Eliminación lisina C-terminal    | +          | No influir en actividad biológica <i>in vivo</i>             |   |
| Enlaces bisulfato                | +++        | Potencia   |   |
| <b>Estructura orden superior</b> | ++         | Potencia y unión receptor-antígeno                           | Espectrofotometría FT-IR, fluorescencia, dicroísmo circular   |
| <b>Variantes cargadas</b>        |            |  |   |
| Formas desaminadas               | +          | Actividad biológica <i>in vitro</i>                          | Cromatografía líquida bajo técnicas IEX, IEF, CE, HPAEL-PAD, Masas.                                 |
| Formas oxidadas                  | ++         | Agregados inmunogénicos                                      |   |
| Formas sializadas                | +++        | Clareamiento o despeje <i>in vivo</i>                        |   |
| <b>Variantes de masas</b>        |            |  |   |
| Agregados                        | +++        | Inmunogenicidad  |   |
| Formas truncadas                 | +          | Actividad biológica  | Cromatografía líquida bajo técnicas SEC, Masas, HIC. SDS-PAGE                                       |
| Monómeros                        | +          | Actividad biológica  |   |
| PEGilaciones                     | +++        | Despeje <i>in vivo</i>                                       |   |
| <b>Oligosacáridos</b>            |            |  |   |
| Fucosa o galactosa               | +++        | Influir en actividad Fc-efector                              | HPAEL-PAD, cromatografía líquida (LC), electroforesis capilar (CE), Espectrometría de masas (LC-MS) |
| Glicanos no humanos              | +++        | Inmunogenicidad  |   |
| Glicanos <i>High</i> -manosa     | ++         | Inmunogenicidad  |   |
| Formas no glicosiladas           | ++         | Influir en función Fc-efector, ADCC y despeje <i>in vivo</i> |   |
| <b>Actividad biológica</b>       |            |  |   |
| ADCC                             | +++        | Modo de acción   |   |
| ADCP                             | ++         | Modo de acción   |   |
| CDC                              | +++        | Modo de acción   |   |
| Apoptosis                        | ++         | Modo de acción   |   |
| Unión Antígeno-Anticuerpo        | +++        | Modo de acción   | Ensayos basados en células, ELISA, SPR  |
| Unión FcγR                       | ++         | ADCC   |   |
| Unión C1q                        | ++         | CDC  |   |
| Unión FcRn                       | ++         | Despeje <i>in vivo</i>                                       |   |
| <b>Contenido</b>                 | +++        | Farmacocinética  | Espectrofotometría UV-Vis   |

*Nota:* Consideración de los atributos críticos de calidad en la evaluación de la comparabilidad analítica de productos biosimilares (23)

Como se puede observar en la tabla anterior, la clasificación de los atributos de calidad frente a su criticidad se realiza frente a su impacto en la función biológica o clínica. Ninguno de los estudios realizados para comprobar la criticidad de los atributos de calidad de los anticuerpos monoclonales en el organismo, ya sea mediante métodos *in vitro*, *in vivo* o *in silico*, toman en consideración las diferentes interacciones que puedan tener entre los propios atributos de calidad, el medio en el que se encuentra embebido el

propio medicamento, y las problemáticas asociadas a la realización de ensayos en laboratorio.

La industria farmacéutica establece unos atributos críticos de calidad frente al perfil del antígeno diana. Este perfil se cataloga en un estudio específico denominado QTPP, de sus siglas en inglés *Quality Target Product Profile*. Se debe considerar razón de peso que los ensayos que se incluyan en el QTPP, deban tener mayor peso frente a otros ensayos no influyentes en este perfil.

También es necesario considerar dentro de un estudio pormenorizado de los atributos críticos de calidad para los anticuerpos monoclonales, la presencia o ausencia de anticuerpos antidroga, denominados ADAs, de sus siglas en inglés *anti-drug antibodies*.

Durante el desarrollo del concepto de ítem de variable de calidad o atributo crítico de calidad acuñado en el presente trabajo de tesis doctoral se observó la necesidad de clasificar los diferentes atributos que se utilizan en los campos de la evaluación de la biosimilaridad y la comparabilidad de un anticuerpo monoclonal frente a su molécula de referencia frente a los propios atributos. en la Tabla 2 se desglosan cuáles atributos favorecen a la biosimilaridad y cuáles atributos favorecen a la comparabilidad.

**Tabla 2.** Clasificación de los atributos frente a su biosimilaridad o comparabilidad

| <b>Demostrar biosimilaridad</b>      | <b>Demostrar comparabilidad</b>          |
|--------------------------------------|--|
| Estructura primaria                  | Estudios analíticos                      |
| Estructuras de orden superior        | Estudios no clínicos                     |
| Propiedades inmuoquímicas            | Estudios clínicos farmacológicos (PK/PD) |
| Unión al receptor                    | Seguridad clínica                        |
| Estabilidad                          | Eficacia clínica                         |
| Función biológica                    | Inmunogenicidad                          |
| Propiedades generales del anticuerpo |  |
| Excipientes                          |  |

Por otro lado, durante el estudio de los diferentes atributos de calidad que debían denominarse ítems para la evaluación de los atributos críticos de calidad definitivos en la concepción del concepto de biosimilar, fue requerido establecer frente a los estudios elaborados por la Agencia Europea del Medicamento, la agencia estadounidense del medicamento y asociaciones de industria farmacéutica como es Fimea, regiones dentro de la estructura superior del anticuerpo monoclonal que influyen en cada una de las características y atribuciones.

Por ese motivo, frente a una estructura simplificada del anticuerpo se establecen que atributos son de mayor relevancia en el caso de la ausencia o presencia de modificaciones en el anticuerpo biosimilar frente al anticuerpo innovador.



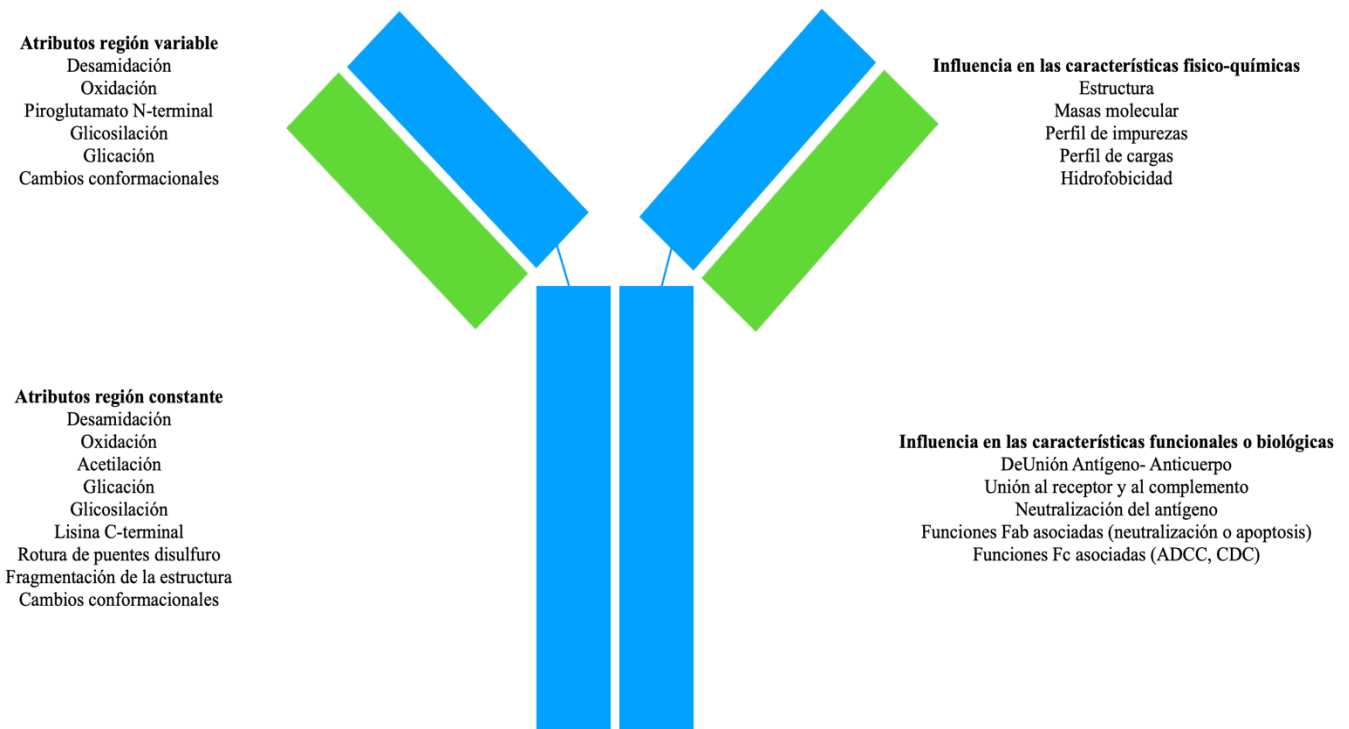


Figura 3. Relación anticuerpo-atributo

Por tanto, se extrae que actualmente las variables están estudiadas de una forma individual y no considerándolas un todo dentro de la definición de biosimilar. Se debe tomar una nueva estructura de la definición que permita aunar todos los conceptos, siendo la unidad propuesta la de ITEM de calidad, puesto que debe ser compuesta por el atributo de calidad y el error de laboratorio.

## Discusión y conclusiones

El estado actual de los biosimilares revela un paisaje científico en constante evolución, respaldado por avances regulatorios y desarrollos técnicos que han permitido la simplificación de técnicas analíticas, así como la representación de resultados. Las definiciones, sea cual fuere el concepto, deben permitir entender de forma clara y precisa lo que se está explicando. En el caso de los biosimilares la definición actual presenta una base cualitativa que permite la interpretación libre de los resultados tanto para laboratorios farmacéuticos como para agencias regulatorias. Este abanico de posibilidades radicalmente opuesta a la concepción de una definición, no permiten el entendimiento del término biosimilar si no se posee unos conocimientos previos en la materia. A su vez la definición está enfocada en la caracterización de los atributos críticos de calidad de forma individualizada. El error en la concepción de la actual definición de biosimilaridad nace de su comparación a un medicamento genérico, los cuales se pueden ser comparados directamente por dosis terapéutica y principio activo.

En cambio, en la biosimilaridad, el medicamento interactúa con un organismo vivo y es parte de este organismo vivo el que realiza las funciones terapéuticas, lo que requiere de los factores, no solamente farmacológicos, sino inmunológicos.

Los avances científicos han permitido establecer una rigurosa conectividad entre los atributos críticos y las funciones biológicas de un organismo vivo. Por ese motivo el concepto de biosimilaridad debe pasar por el proceso de reestructuración al concepto de ítem promulgado en el presente escrito ya que debe valorarse de forma globalizada y no de forma individualizada. La reestructuración de la definición de biosimilar no debe pararse exclusivamente en los atributos críticos de calidad, si no se debe tomar bajo el término ítem, otras variables de gran relevancia para la concepción de una definición de mayor exactitud y de base cuantificable, para establecer en una única sentencia la realidad del funcionamiento de un medicamento biológico en un sistema orgánico con el que interactúa.

## Referencias

1. Schiestl M, Zabransky M, Sörgel F. Ten years of biosimilars in Europe: development and evolution of the regulatory pathways. *Drug Des Devel Ther* [Internet]. 2017;11:1509-15. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5440034/pdf/dddt-11-1509.pdf>
2. Agbogbo FK, Ecker DM, Farrand A, Han K, Khoury A, Martin A, et al. Current perspectives on biosimilars. *J Ind Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2019;46(9-10):1297-311. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10295-019-02216-z>
3. Magnenata L, Palmeseb A, Fremaux C ele, D'Amicid F, Terlizzed M, Rossib M, et al. Demonstration of physicochemical and functional similarity between the proposed. *MAbs*. 2017;9(1):127-39.
4. Pani L, Montilla S, Pimpinella G, Bertini Malgarini R. Biosimilars: The paradox of sharing the same pharmacological action without full chemical identity. *Expert Opin Biol Ther*. 2013;13(10):1343-6.
5. Derbyshire M. Data requirements to demonstrate biosimilarity in the EU. *GaBI J*. 2016;5(4):182-4.
6. WHO (World Health Organization). WHO prequalifies first biosimilar medicine to increase worldwide access to life-saving breast cancer treatment. 2019;(December):1-5. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/detail/18-12-2019-who-prequalifies-first-biosimilar-medicine-to-increase-worldwide-access-to-life-saving-breast-cancer-treatment>
7. O'Callaghan J, Barry SP, Bermingham M, Morris JM, Griffin BT. Regulation of biosimilar medicines and current perspectives on interchangeability and policy. *Eur J Clin Pharmacol*. 2019;75(1):1-11.
8. Kirchhoff CF, Wang XZM, Conlon HD, Anderson S, Ryan AM, Bose A. Biosimilars: Key regulatory considerations and similarity assessment tools. *Biotechnol Bioeng*. 2017;114(12):2696-705.

9. Smith G. European medicines agency guideline on bioanalytical method validation: What more is there to say? *Bioanalysis*. 2012;4(8):865-8.
10. Doevendans E, Schellekens H. Immunogenicity of Innovative and Biosimilar Monoclonal Antibodies. *Antibodies*. 2019;8(1):21.
11. Gil García C. La metodología proteómica, una herramienta para la búsqueda de función. *Actual SEM* [Internet]. 2003;35:12-20. Disponible en: [https://www.semicrobiologia.org/pdf/actualidad/SEM35\\_11.PDF](https://www.semicrobiologia.org/pdf/actualidad/SEM35_11.PDF)
12. BWG. Fundamentos de Comparabilidad Analítica de Anticuerpo Monoclonal Biosimilar para Revisores Regulatorios. En 2018. p. 1-50.
13. CIMA. Registro de medicamentos [Internet]. 2021. p. 19-22. Disponible en: <http://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>
14. Runcie K, Budman DR, John V, Seetharamu N. Bi-specific and tri-specific antibodies- the next big thing in solid tumor therapeutics. *Mol Med*. 2018;24(1):1-15.
15. Zhang E, Xie L, Qin P, Lu L, Xu Y, Gao W, et al. Quality by Design–Based Assessment for Analytical Similarity of Adalimumab Biosimilar HLX03 to Humira®. *AAPS J*. 2020;22(3):1-14.
16. Seo N, Polozova A, Zhang M, Yates Z, Cao S, Li H, et al. Analytical and functional similarity of Amgen biosimilar ABP 215 to bevacizumab. *MAbs* [Internet]. 2018;10(4):678-91. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19420862.2018.1452580>
17. Agency EM. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance : non-clinical and clinical issues Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active subs. (CHMP/BMWP/42832/2005 Rev 1) [Internet]. 2013;44(November):1-13. Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/01/WC500180219.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/01/WC500180219.pdf)
18. Schellekens H, Lietzan E, Faccin F, Venema J. Biosimilar monoclonal antibodies: The scientific basis for extrapolation. *Expert Opin Biol Ther*. 2015;15(11):1633-46.
19. Xu Y, Xie L, Zhang E, Gao W, Wang L, Cao Y, et al. Physicochemical and functional assessments demonstrating analytical similarity between rituximab biosimilar HLX01 and the MabThera®. *MAbs*. 2019;11(3):606-20.
20. Kabir ER, Moreino SS, Siam MKS. The breakthrough of biosimilars: A twist in the narrative of biological therapy. *Biomolecules*. 2019;9(9):1-34.
21. Wang J, Chow SC. On the regulatory approval pathway of biosimilar products. *Pharmaceuticals*. 2012;5(4):353-68.
22. Pérez MÁ. EL ANÁLISIS CONTABLE MULTIDISCIPLINAR: APLICACIONES DEL GRAFICO RADIAL Y LA CAJA DE EDGEWORTH EN CONTABILIDAD Miguel Ángel Pérez Benedito Departamento de Contabilidad de la Universidad de Valencia. 2011;1-9.

23. Kwon O, Joung J, Park Y, Kim CW, Hong SH. Considerations of critical quality attributes in the analytical comparability assessment of biosimilar products. *Biologicals* [Internet]. 2017;48:101-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2017.04.005>
24. Ofran Y, Schlessinger A, Rost B. Automated Identification of Complementarity Determining Regions (CDRs) Reveals Peculiar Characteristics of CDRs and B Cell Epitopes. *J Immunol*. 2008;181(9):6230-5.
25. Polonelli L, Pontón J, Elguezabal N, Moragues MD, Casoli C, Pilotti E, et al. Antibody complementarity-determining regions (CDRs) can display differential antimicrobial, antiviral and antitumor activities. *PLoS One*. 2008;3(6).